N° D'ORDRE :
217

THESES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

Jean FALLOT

1re THESE

SUR LA PROLIFÉRATION DES TISSUS DE *VITIS* ET D'AUTRES VÉGÉTAUX. RÔLE DES BOURGEONS. ACTION DES BACTÉRIES.

2e THESE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 14 mars 1964, devant la Commission d'examen :

MM. P. RIVALS — *Président*

R. DIEHL
P. CHOUARD
F. NYSTERAKIS
} *Examinateurs*

Publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique

IMPRIMERIE DU SUD
24, Rue de Négreneys. — TOULOUSE

1964

SUR LA PROLIFÉRATION DES TISSUS DE *VITIS* ET D'AUTRES VÉGÉTAUX. RÔLE DES BOURGEONS. ACTION DES BACTÉRIES.

N° D'ORDRE :
217

THESES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

Jean FALLOT

1re THESE

SUR LA PROLIFÉRATION DES TISSUS DE *VITIS* ET D'AUTRES VÉGÉTAUX. RÔLE DES BOURGEONS. ACTION DES BACTÉRIES.

2e THESE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 14 mars 1964, devant la Commission d'examen :

MM. P. RIVALS — *Président*

R. DIEHL
P. CHOUARD
F. NYSTERAKIS — *Examinateurs*

Publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

IMPRIMERIE DU SUD
24, RUE DE NÉGRENEYS. — TOULOUSE

1964

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ DES SCIENCES

TABLEAU DU PERSONNEL

ADMINISTRATION

MM. **Durand** ..... Doyen.
Combes ..... Assesseur.

HONORARIAT

MM. **Camichel** ..... Professeur honoraire, Membre de l'Institut.
Capdecomme .. Doyen honoraire, Recteur honoraire.
Chalaud ..... Professeur honoraire.
Deltheil ..... Recteur honoraire, Doyen honoraire, Professeur honoraire.
Dupouy ..... Doyen honoraire, Membre de l'Institut, Directeur général honoraire du C.N.R.S.
Fouché ..... Professeur honoraire.
Gaussen ..... Professeur honoraire, correspondant de l'Institut.
Jacques ..... Professeur honoraire.
Mignonac ..... Professeur honoraire.

PROFESSEURS

MM. **Vandel** ..... Zoologie, Membre de l'Institut.
Cathala ..... Chimie Physique et Electrochimie.
Escande ..... Mécanique des Fluides, Membre de l'Institut.
Dupouy ..... Physique, Membre de l'Institut.
Castéras ..... Géologie.
Bedos ..... Chimie.
Capdecomme ... Minéralogie.
Dupin ..... Radioélectricité.
Teissié-Solier ... Electrotechnique.
Nouvel ..... Biologie générale.
Gallais ..... Chimie.
Durand ..... Physique.
Fert ..... Physique.
Diehl ..... Agronomie.
Combes ..... Calcul différentiel et intégral.
Lesbre ..... Chimie organique.
Blaizot ..... Physiologie.
Brunel ..... Physiologie végétale.
Morquer ..... Cryptogamie.
Huron ..... Mathématiques appliquées.
Margulis ..... Pédologie.
Triche ..... Chimie analytique et Spectrographie.
Pasqualini ..... Mathématiques.
Ledoux ..... Zoologie appliquée.
Rivals ..... Agriculture.
Perrier ..... Physique.
Mathis ..... Chimie.
Orliac ..... Géochimie et Minéralogie.
Lafourcade ..... Physique.
Angelier ..... Zoologie.
Mlle **de Ferre** ..... Botanique.
MM. **Farran** ..... Minéralogie et Géotechnique.
Laudet ..... Physique théorique et Calcul numérique.
Serfaty ..... Biologie animale.
Nougaro ..... Hydraulique générale et appliquée.
Lagasse ..... Electrotechnique.
Gardy ..... Génie chimique.
Blanc ..... Physique nucléaire.
Birebent ..... Electronique appliquée.
Voigt ..... Chimie minérale.
Leredde ..... Botanique.
Lelubre ..... Géologie.
Trochain ..... Botanique.
Gouyon ..... Mécanique rationnelle et appliquée.
Bayet ..... Physique.
Masdupuy ..... Chimie propédeutique.
Lalague ..... Mathématiques générales.
Dessens ..... Physique du globe.
Bouigue ..... Astronomie.
Couchet ..... Physique.
Lejeune ..... Chimie.
Lascombes ..... Botanique.
Asselineau ..... Chimie biologique.
Mauret ..... Chimie systématique.
Gumowski ..... Professeur associé.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. **Lacroix** ..... Techniques agricoles.
Hamant ..... Botanique.
Mme **Brunel** ..... Physiologie végétale.
M. **Gautier** ..... Physique propédeutique.
Mlle **Berducou** ..... Physiologie végétale.
MM. **Maroni** ..... Chimie.
Secondat ..... Zootechnie et Hydrobiologie appliquée.
Miquel ..... Chimie propédeutique.
Raynaud Pierre . Physiologie animale.
Picca ..... Physique.
Pulou ..... Minéralogie.
Lacoste ..... Electrotechnique.
Agid ..... Physiologie.

MAITRES DE CONFERENCES

MM. **Blanchard** ..... Mathématiques.
Méric ..... Mathématiques appliquées.
Colin ..... Physique.
Beetschen ..... Biologie générale.
Montel ..... Chimie.
Coulon ..... Physique industrielle.
Rey ..... Botanique.
Crumeyrolle .... Mathématiques.
Jourdheuil ..... Zoologie.
Bugarel ..... Génie chimique.
Cambou ..... Physique.
Médioni ..... Psychophysiologie comparée.
Coulomb ..... Physique.
Mascart ..... Mathématiques.
Pommiez ..... Mathématiques générales.
Sévely ..... Physique industrielle appliquée.
Thirriot ..... Mécanique des Fluides.
David ..... Physique.
Mme **Lecal** ..... Zoologie.
M. **Mirouse** ..... Géologie.
Mlle **Lapeyre** ..... Mathématiques.
MM. **Dat** ..... Mécanique des Fluides.
Pilod ..... Physique.
Larroque ..... Physique.
Barrans ..... Chimie.
Zalta ..... Chimie biologique.
Jeannin ..... Chimie minérale.

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. **Boursin** ..... Mathématiques.
Céa ..... Mathématiques M.P.C.
Thénoz ..... Minéralogie et Géotechnie

SECRETARIAT

M. **Argilas** ..... Conseiller Administratif des Services Universitaires.

A LA MEMOIRE DE MON PERE ET DE MON ONCLE

A MA MERE

A MA FEMME

A MA FAMILLE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547605_0009

INTRODUCTION

La capacité de division du méristème secondaire serait-elle une conséquence de l'activité du méristème primaire ? Voici un problème qui, depuis fort longtemps, préoccupe les biologistes.

Des observations physiologiques étayées par de solides études anatomiques ont tout d'abord montré que l'éveil des bourgeons détermine l'activité du cambium. La découverte des auxines permit ensuite de préciser ces résultats. Un peu plus tard, après la mise au point de la technique de la culture des tissus, cette question connut un regain d'intérêt. Il fut alors possible de contrôler de manière très stricte la prolifération de la zone génératrice libéro-ligneuse. Ainsi fut prouvée l'influence histogène d'un bourgeon greffé sur les tissus d'un fragment « sujet ». Une autre question demeurait à résoudre : quel serait en culture aseptique le comportement du cambium prélevé pendant le repos végétatif des plantes ? On pouvait admettre que la dépendance du méristème secondaire serait démontrée si la prolifération *in vitro* du cambium avait lieu seulement pendant la croissance active des bourgeons. Au contraire, l'indépendance du méristème secondaire serait établie si ce dernier était capable de proliférer tout au long de l'année.

Malgré la complexité du problème, j'ai voulu contribuer à son étude. Dans ce but, il m'a paru nécessaire d'utiliser des végétaux très proches au point de vue systématique : diverses espèces et variétés de *Vitis* ont été choisies. J'ai alors observé leurs réactions en plein champ et celles de leurs explantats *in vitro*. J'ai ensuite recherché si, selon le moment de son prélèvement, le méristème secondaire présentait, en culture aseptique, les mêmes potentialités de division. Dans le cas où le cambium se révélerait incapable de proliférer, je me suis proposé d'utiliser divers composés et artifices pour obtenir ainsi de précieux renseignements sur les modalités de sa réactivation. Telles sont les principales idées qui ont guidé mes premières recherches.

Au cours de cette étude, certaines réactions ont retenu plus particulièrement mon attention. Elles m'ont conduit à aborder dans la deuxième partie de ce mémoire un nouveau problème qui présente, à mon avis, un vif intérêt : celui du rôle possible de bactéries banales sur l'activité du méristème secondaire de vigne. Quelques observations m'avaient en effet conduit à penser que la prolifération de ce tissu pouvait être déclenchée par l'action d'une bac-

térie. A l'aide de cultures *in vitro,* j'ai pu alors aborder l'étude de quelques problèmes ardus, mais combien passionnants : la constance de l'induction, par cette bactérie, de la prolifération; l'action de cette dernière et celle d'un certain nombre d'autres germes sur divers tissus et, enfin, le mode d'action de l'un d'entre eux.

⁂

Je tiens tout d'abord à témoigner à M. F. Nysterakis, Directeur de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique, ma respectueuse et profonde reconnaissance. Tout au long de ces recherches, il n'a cessé de me prodiguer ses conseils. Il fut pour moi un guide dévoué, rompu aux techniques expérimentales utilisées en biologie et très précieux également pour la rédaction de ce mémoire.

M. P. Rivals, Professeur à la Faculté des Sciences de Toulouse m'a accueilli dans son laboratoire. Ce fut un plaisir pour moi de travailler à ses côtés en bénéficiant de sa vaste érudition, de son esprit d'observation et également de son souci de clarté. Ses conseils me furent d'un grand secours et je ne saurais assez l'en remercier. J'espère avoir finalement apporté une contribution à des problèmes qui lui sont chers.

A chaque étape de cette étude, M. P. Chouard, Professeur à la Sorbonne, a trouvé le temps nécessaire pour m'accorder l'aide précieuse de ses conseils et de ses critiques. Il m'a autorisé à participer pendant quelques semaines à la vie de son laboratoire à Gif-sur-Yvette où M. Nitsch et son équipe, avec la plus grande gentillesse, m'initièrent à quelques-unes de leurs techniques. Il a bien voulu faire partie de mon jury; qu'il veuille trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

M. R. Diehl, Directeur de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, pendant de longues années, a manifesté à mon égard la plus grande bienveillance. En acceptant de juger ce mémoire, il a montré tout l'intérêt qu'il porte à de tels travaux et je lui exprime ma vive gratitude.

M. le Professeur A. Brunel a bien voulu lire ce mémoire; je l'en remercie vivement.

J'ai été très touché de l'aimable accueil que m'a réservé M. R. Gautheret, Professeur à la Sorbonne et membre de l'Institut. Il m'a très généreusement fait profiter de sa haute compétence en matière de cultures de tissus. Qu'il reçoive ici mes respectueux remerciements, en particulier pour l'aide qu'il m'a apportée dans les questions d'anatomie.

Ma reconnaissance va également à M. A. Moyse, Professeur à la Sorbonne, qui m'a permis d'effectuer dans son laboratoire un stage très profitable, à Messieurs H. Margulis et J. Lacroix, Professeurs à la Faculté des Sciences de Toulouse, que j'ai mis à contribution à diverses reprises et à M^lle^ J. Berducou et M. Cl. Hamant, Professeurs, avec qui j'ai eu des entretiens fort utiles.

Je remercie également M. V. A. Evreinoff, Professeur hono-

raire, et S. Jerebzoff, chargé de recherche au C. N. R. S., qui ont traduit pour moi des articles d'auteurs russes.

Il m'est agréable de rappeler que je dois une part de ma formation à l'enseignement dispensé à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, notamment par M. J. Branas, Professeur de Viticulture.

A mes collègues et amis qui m'ont aidé à divers titres, j'exprime ma cordiale sympathie. En particulier, les amicales discussions que j'ai eues avec G. Durand comptent parmi les meilleurs souvenirs que je garde de cette étude.

A ma femme qui m'a si efficacement secondé tout au long de ce travail, va aussi mon affectueuse reconnaissance.

Je n'aurai garde d'oublier la dette contractée envers M. G. Chalaud, Directeur honoraire de l'E. N. S. A. T., qui a décidé de ma carrière universitaire.

Qu'il me soit enfin permis de rendre un hommage particulier à la mémoire de mon oncle M. P. Donzelot. Je n'oublierai jamais ses encouragements, ses précieuses réflexions, ni ses conseils si profondément humains.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

ROLE DES MERISTEMES PRIMAIRES ET SECONDAIRES DE TIGES DANS LA CROISSANCE DE LA VIGNE

Avant de décrire les expériences qui font l'objet de ce mémoire, il est indispensable de rappeler les principaux travaux consacrés à la participation des méristèmes primaires (apicaux et axillaires) et secondaires à la croissance de la vigne et, si nécessaire, à celle d'autres végétaux. Ceci m'amènera à résumer brièvement, en particulier, les données connues sur la dormance des bourgeons et celle, éventuelle, du cambium. J'envisagerai également les diverses hypothèses avancées par les auteurs pour expliquer ces phénomènes.

Avec les *Actinidia* et le Kaki (*Diospyros Kaki*), la vigne est l'une des rares espèces fruitières présentant des bourgeons mixtes à ébauches florales axillaires. Chez ces espèces, bourgeons fertiles et bourgeons végétatifs débourrent de façon pratiquement synchrone (1), à l'inverse de ce qui a lieu chez beaucoup d'espèces pourvues de bourgeons à sexualisation intégrale, c'est-à-dire de boutons (pêcher, amandier), ou même de bourgeons mixtes à fleurs terminales (poirier, fleurs femelles du noisetier).

I. — Méristème apical

Le début de la période végétative de la vigne se caractérise par le « débourrement », phénomène marqué par l'écartement des écailles des bourgeons, laissant apparaître une matière cotonneuse que les praticiens désignent sous le nom de bourre. La croissance en longueur des tiges est alors assurée dans son ensemble par le développement des 6 à 12 entre-nœuds ébauchés dans les bourgeons

---

(1) Antcliff et Webster (1955) ont constaté que les bourgeons fertiles ne présentaient qu'une *tendance* à débourrer un peu plus tôt que les bourgeons stériles.

et par le fonctionnement des méristèmes apicaux se manifestant surtout chez les vignes taillées (Zimmerman, 1954, Branas, 1957). L'activité de ces derniers se poursuit selon le milieu, la climatologie de l'année, la variété, la vigueur des ceps, et surtout la taille..., plus ou moins tard en saison : jusqu'à fin juillet dans la région montpelliéraine (Branas, Bernon et Levadoux, 1946), mi-août, dans les Charentes (Guillon, 1904)... A Colmar, Huglin (communication personnelle) observe encore un allongement à la mi-septembre.

Des observations faites à Toulouse montrent que l'arrêt de croissance des tiges de la variété *Syrah*, largement utilisée dans cette étude, survient en général dans la première quinzaine d'août.

Par contre, les méristèmes apicaux des tiges du porte-greffe *Rupestris du Lot* cessent de croître à Toulouse dans le courant de la deuxième quinzaine de septembre. En 1961, j'ai mesuré l'allongement quotidien moyen de 12 tiges au cours de différentes périodes et j'ai obtenu les résultats suivants, donnés ici à titre indicatif :

— du 1er au 15 juillet : 5,12 cm.
— du 15 au 31 juillet : 3,76 cm.
— du 16 au 28 septembre : 0,57 cm.
— du 28 au 8 octobre : 0 (l'apex de certaines tiges est même parfois avorté).

Les *causes* déterminant l'*arrêt* de l'activité apicale sont diverses. Le fonctionnement de l'apex dépend notamment de la plus ou moins bonne alimentation de l' « unité rameau » (en particulier sous l'effet des tailles), de facteurs autonomes aboutissant à l'apparition de rythmes endogènes et aussi des conditions externes telles que la température, le degré hygrométrique, la longueur du jour. A ce propos, Alleweldt (1959) a montré, qu'en jour court, l'allongement des entre-nœuds est plus faible, le nombre des nœuds formés est plus petit et finalement l'arrêt de croissance est plus précoce qu'en jour normal.

II. — Méristème axillaire : œil latent. Etude particulière de sa dormance

A l'aisselle de chaque feuille, existent deux bourgeons complexes vulgairement appelés yeux. L'un est nommé « prompt-bourgeon », car il peut se développer l'année même de son apparition; il peut engendrer alors un rameau appelé « anticipé ». L'autre est « l'œil latent », car il s'éveille normalement après la période de repos végétatif.

Dans cette mise au point, le comportement du prompt-bourgeon ne sera pas envisagé puisque ce dernier n'a pas été employé au cours de mes recherches.

En l'absence de décapitation ou de maladie cryptogamique, aucun œil latent ne se développe d'ordinaire en plein champ l'année de sa formation et ceci, quel que soit son niveau sur la tige (1). C'est après la période de repos que ce bourgeon peut entrer en croissance si les conditions externes le permettent. A la suite des travaux de Champagnat sur le lilas (1952), Huglin (1958) a étudié le comportement des bourgeons latents de vigne.

Il effectue l'ablation de tous les prompt-bourgeons et décapite les tiges à des dates et à des niveaux variables. Il montre ainsi que, pendant les quatre à six semaines qui suivent leur formation sur la tige, les yeux latents sont simplement inhibés et il est possible de provoquer expérimentalement leur départ. Des inhibitions non polarisées, résultant de détournements trophiques, s'exerceraient ensuite entre bourgeons ainsi éveillés (2). Plus tard, aucun bourgeon latent ne se développe et Huglin conclut que, dans les conditions climatiques de l'Alsace, la dormance affecte les bourgeons de la base des tiges dès le mois de juin, puis gagne progressivement l'extrémité du rameau.

Afin de vérifier, à Toulouse, le comportement des bourgeons de vigne selon la croissance des rameaux, j'ai repris en les modifiant légèrement les essais effectués à Colmar par Huglin. Le 27 juillet 1961, j'ai décapité un grand nombre de tiges de *Syrah*, certaines au-dessus du 5e bourgeon, d'autres au-dessus du 10e bourgeon, d'autres encore au-dessus du 15e; sur la portion conservée, j'ai alors supprimé les prompts-bourgeons, les anticipés et toutes les feuilles.

Dans ces conditions, les bourgeons des 5e et 10e rangs à partir de la base n'on manifesté aucune activité, tandis que ceux des 14e et 15e rangs sont entrés en croissance.

Si l'on adopte comme « test » de non dormance des bourgeons leur mise en activité sur la plante en place, on peut conclure qu'à Toulouse, fin juillet, les bourgeons des 5e et 10e rangs de *Syrah* sont dormants, alors que ceux du 15e rang sont encore inhibés par corrélation. Bien que, à Colmar et à Toulouse les milieux et les cépages expérimentés soient différents, les résultats obtenus sont comparables.

La **dormance** (ou **repos végétatif**) a suscité de très nombreuses recherches; on s'est attaché, en particulier, à préciser ses différentes phases, les circonstances et les causes de son établissement, les conditions et les facteurs de sa disparition... Je résumerai brièvement les résultats obtenus en me limitant surtout à ceux concernant la vigne.

---

(1) Des exceptions ont été observées par Branas et Nozeran (cité par Nigond, 1961 a), ainsi que par Alexander et Woodham (1962).

(2) Antcliff, Webster et May (1955) et Bessis (1962 et 1963) pensent que les corrélations d'inhibition longitudinale entre bourgeons d'un an sont polarisées, de nature hormonale et se manifestent sur chaque orthostique séparément.

A. — PHASES DE LA DORMANCE DES BOURGEONS DE VIGNE

Pour déterminer la durée des phases de la dormance, des auteurs ont placé à des températures convenables des pieds de vignes en pots ou des fragments de tiges pourvus de bourgeons et prélevés à différents moments. Ils ont alors noté les variations du temps nécessaire à l'entrée en croissance des bourgeons.

Kondo, en 1955, a défini le premier les trois phases de la dormance de la vigne. Il a mis en évidence :

— tout d'abord une dormance « conditionnelle » qui n'est autre que l'inhibition par corrélation; la croissance des bourgeons est possible en peu de jours si les segments qui les portent sont détachés de la plante ou s'il y a eu décapitation;

— une dormance « organique » (endogène pour d'autres auteurs) qui affecte les bourgeons dont le débourrement survient seulement de 20 à 75 jours après le prélèvement;

— une troisième phase dite dormance « forcée » ou « imposée », caractérisée par un temps de débourrement inférieur à 20 jours; ici, une température externe insuffisante empêcherait le départ des bourgeons.

D'autres auteurs, Alleweldt (1960 a), Pouget (1960, 1961 et 1963), Nigond (1961 a et b), Antcliff et May (1961) reprennent les phases délimitées ainsi par Kondo; les résultats des premiers sont présentés comparativement dans la fig. 1 et appellent les remarques suivantes.

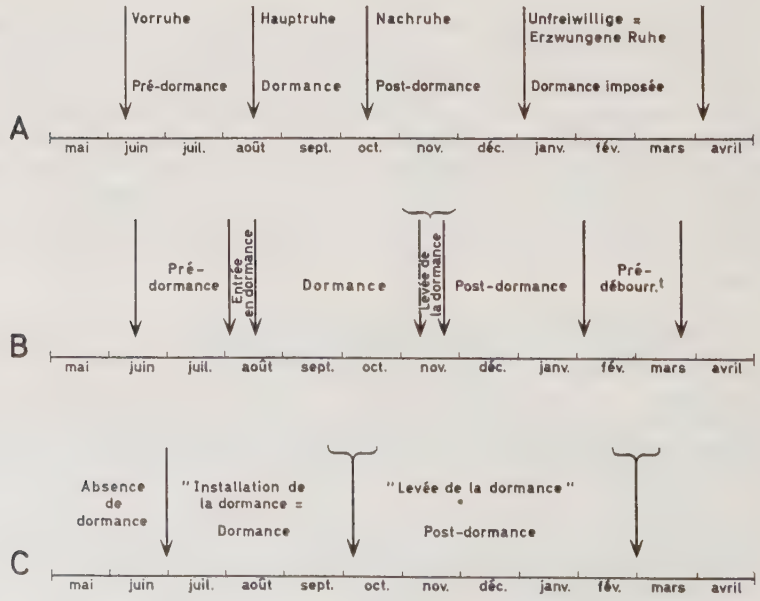


Fig. 1. — *Phases de la dormance des bourgeons de vigne : selon* Alleweldt (A), Pouget (B) *et* Nigond (C). *Les résultats de notre expérimentation relative à cette question sont résumés dans la figure* 3.

D'après Pouget, l'apparition de la dormance serait très brutale, celle-ci atteignant sa plus grande intensité dès le début, alors que, selon les deux autres auteurs, son établissement serait progressif. En dehors de cette importante différence, la fin de la dormance est située, pour Pouget, mi ou fin novembre tandis que Nigond et Alleweldt la placent respectivement, fin septembre ou début octobre et mi-octobre. Ces écarts tiennent sans doute à ce que les variétés choisies et les conditions écologiques des vignobles où ces chercheurs ont prélevé leurs échantillons sont bien différentes. Ils peuvent être dus aussi au fait que, selon les auteurs, les caractéristiques utilisées pour l'estimation de la dormance ne sont pas les mêmes.

B. — CAUSES DE L'ENTREE EN DORMANCE DES BOURGEONS AXILLAIRES

Si l'on envisage les conditions d'entrée en dormance des plantes, on peut classer ces dernières en deux groupes (Chouard, 1951).

1. — Les plantes mises en dormance par les conditions externes : courte photopériode, basse température, sécheresse (*Salix, Robinia Pseudacacia, Chrysanthemum*).

2. — Les plantes dont l'entrée en dormance répond à des mécanismes autonomes (*Syringa vulgaris*).

Chez les bourgeons de la vigne, quels *facteurs déterminent* le *passage* de l'état *d'inhibition* corrélative à l'état de *dormance ?* Sont-ils d'origine externe ou interne ?

Le début du repos de la vigne a souvent été mis en relation avec les chutes de *températures* automnales. S'il est bien connu que le froid interrompt toute végétation à partir d'un seuil appelé zéro de végétation (10 à 12° C selon Branas, Bernon et Levadoux, 1946), ceci n'implique pas qu'il soit le facteur déterminant de l'entrée en dormance. En effet, Alleweldt (1960 a) a montré expérimentalement que l'action des températures de — 5° et + 5° C n'était pas nécessaire pour obtenir la mise en dormance des bourgeons.

Le même auteur a établi que la *longueur du jour* n'intervient pas non plus pour provoquer ce phénomène. Au cours de recherches complémentaires (1962), il a étudié l'action des jours courts sur la callogenèse et la formation de racines sur des explantats cultivés *in vitro.*

Les facteurs externes étudiés ne paraissant donc pas déterminants, il convient d'envisager l'action des *facteurs internes* sur l'entrée en dormance des bourgeons de la vigne.

Pour Fennell (1948), certaines variétés de vigne posséderaient en climat tropical une végétation « presque continue ».

Selon Quenot (1947), au Soudan, les bourgeons de vigne ne se trouveraient jamais en état de dormance, mais seraient seulement inhibés par corrélation. Cependant, d'après les données fournies par cet auteur, il est visible que certaines des tailles effectuées

permettent le départ des bourgeons des extrémités non encore en dormance. Les observations précédentes se comprendront d'ailleurs mieux à la lumière des précisions qui suivent.

A Bombay (Cheema, Bhat et Naik, 1954) et à la Réunion (Rivals, communication personnelle), la végétation de la vigne présente les modalités suivantes. La croissance normale des tiges débute un peu avant la saison des pluies et se montre très active tout le long de cette période. A l'arrivée de la saison sèche, les feuilles les plus âgées tombent progressivement; mais pendant longtemps, si le milieu n'est pas trop sec, les extrémités des tiges conservent une croissance très ralentie et quelques feuilles vertes. Le cycle annuel suivant commence avec l'entrée en croissance, souvent quelque peu « erratique », de bourgeons situés en certains points privilégiés du rameau (en particulier, sur la partie moyenne). Il faut souligner ici l'hétérogénéité des départs; en l'absence de dormance imposée, le débourrement échelonné observé doit logiquement suivre la levée, elle même plus ou moins irrégulière, de la dormance des bourgeons.

Si, au début de la saison sèche, la vigne dispose de suffisamment d'eau (irrigation) et si elle est taillée, les deux à trois bourgeons supérieurs peuvent débourrer, tandis que les autres restent *dormants*. Lorsqu'il y a départ des bourgeons, deux cycles de végétation se succèdent donc, la croissance du méristème apical d'une tige étant relayée par celle d'un méristème axillaire.

Les observations recueillies sur le comportement de la vigne croissant en régions tropicales paraissent donc contradictoires. Cela tient sans doute au fait que les climats de ces contrées sont fort différents. D'après l'ensemble de ces données, il est cependant permis de penser que certains bourgeons connaissent, en région tropicale, une véritable dormance endogène.

Quelles que soient les causes de l'entrée en dormance des bourgeons, il est logique d'admettre que ces organes sont alors le siège de **modifications biochimiques.** La mise en évidence de ces dernières fut, chez les végétaux supérieurs, la source de nombreux travaux.

Après la découverte des *auxines*, on supposa naturellement que la dormance était due à une trop faible teneur en ces substances. Selon Zimmermann (1936), Bennett et Skoog (1938), Avery, Burkholder et Creighton (1937) et Chan-Tom (1951), les bourgeons renferment en effet peu d'auxine libre en automne, c'est-à-dire au début du repos, et ils s'enrichissent en cette substance quand le printemps approche. Par contre, utilisant d'autres méthodes d'extraction, Kassem (1944) et Eggert (1949 et 1953) constatèrent que la quantité d'auxine totale contenue dans les bourgeons est élevée au début de l'hiver; ils attribuèrent alors le sommeil de ces organes à un excès d'auxine...

De nombreux auteurs pensent actuellement, à la suite des travaux de Hemberg (1947, 1949 a et b, 1952), Pollock (1950)..., que la dormance est due à la présence d'*inhibiteurs de croissance*. Ceux-ci disparaîtraient à la fin de la période de repos ou après un traitement par un agent de levée de dormance. Parmi les composés sus-

ceptibles de jouer un tel rôle, figureraient la naringénine, 5, 7, 4-trihydroxyflavanone (Hendershot et Walker, 1959) et le complexe inhibiteur β de Bennett-Clark formé de scopolétine, acides aliphatiques, acide azalaïque... (Housley et Taylor, 1958). Certains inhibiteurs interviendraient en bloquant l'activité de diverses enzymes (Phillips et Wareing, 1958); quant à la naringénine, elle provoquerait la dormance en inhibant l'action de gibbérellines naturelles (Phillips, 1962). La nature et le mode d'action de ces composés demandent à être précisés. N'a-t-on pas trouvé d'ailleurs une grande quantité d'inhibiteurs dans les bourgeons, alors qu'ils étaient prêts à entrer rapidement en croissance ?...

Des auteurs admettent que, pendant le repos, une corrélation inverse unit les teneurs en substances stimulantes et inhibitrices. Pour quelques-uns d'entre eux, cependant, cette évolution serait plutôt une conséquence qu'une cause de la levée de la dormance (Allary, 1961).

Parmi les composés capables d'intervenir dans le phénomène de la dormance, certains possèdent la fonction *thiol*. Guthrie (1940) a en effet décelé l'apparition de glutathion dans des tubercules de pomme de terre entrant en croissance après levée artificielle du repos. Ce corps serait même capable de provoquer la disparition des inhibiteurs responsables de la dormance. Malgré le nombre relativement faible de travaux consacrés à de tels composés dans l'étude des inhibitions de bourgeons, on pense qu'ils jouent un certain rôle dans la croissance (Brunel, 1956 et Goas, 1959).

Par ailleurs, des variations de teneurs en glucides, acides aminés, acides nucléiques... ont été mises en évidence au cours de la dormance des plantes. Passer en revue ces divers travaux nous obligerait à sortir du cadre de cette étude.

Dans des extraits de tiges de deux Ampélidacées (*Parthenocissus tricuspidata* et *P. quinquefolia*), obtenus en hiver, Kovoor (1960) a décelé plusieurs régulateurs de croissance qui exercent des effets différents sur la prolifération de tissus végétaux cultivés *in vitro*.

Chez la vigne, Spiegel (1953 et 1954) trouve que la teneur en auxine libre des bourgeons est pratiquement constante pendant l'hiver et augmente 15 jours avant le débourrement. Il met d'autre part en évidence deux inhibiteurs dans les extraits à l'éther de ces organes; la concentration de ces composés est maximale en janvier et nulle un peu avant l'entrée en croissance. La levée artificielle de la dormance aurait pour effet, d'après lui, de faire disparaître ces inhibiteurs. Il faut remarquer cependant que la propriété inhibitrice de tels composés n'a pas été démontrée sur la croissance des bourgeons de vigne.

Au cours de ses recherches sur le repos végétatif de la vigne, Pouget (1963) signale que « des réactions de fermentation » peuvent se produire peu avant la levée de la dormance.

Il est utile de citer enfin les modifications cytologiques accompagnant l'entrée en repos des bourgeons de *Vitis vinifera*. D'après

Genkelj et Oknina (1948), le protoplasme se contracte et se trouve alors entouré et isolé par une couche de « lipoïdes ». L'accumulation de telles substances a été constatée également chez d'autres espèces.

D'après Esaü (1948), un autre phénomène pourrait jouer un rôle dans la dormance; il s'agit du dépôt de callose qui oblitère les tubes criblés de la vigne après la chute des feuilles et disparaît peu avant le débourrement des bourgeons. Pouget (1963) a confirmé que la callose apparaît en effet quelques jours après la chute des feuilles, mais il a précisé que sa disparition ne dépend pas de l'état physiologique des bourgeons latents voisins.

Après examen des principales hypothèses avancées pour préciser les causes de l'entrée en dormance des bourgeons de vigne, nous inclinons en faveur du rôle majeur joué par les facteurs internes.

C. — LEVEE DE LA DORMANCE DES BOURGEONS DE VIGNE

On connaît aussi mal les causes profondes de la levée de la dormance que celles de l'entrée en dormance des bourgeons. Mais, au point de vue pratique, on est parvenu, à l'aide de divers traitements, à rompre assez facilement le repos des plantes, alors que l'on est moins bien armé pour leur imposer la dormance. Etre en mesure de modifier l'époque du départ de la croissance a en effet toujours tenté les horticulteurs. Il est très utile, soit de la retarder pour éviter les effets des gelées printanières, soit, dans certains cas, de l'avancer pour obtenir des récoltes à contre-saison.

Les techniques utilisées pour lever la dormance des bourgeons de vigne mettent en jeu des facteurs physiques tels que le froid, le bain chaud, la dessication... et des facteurs chimiques.

a) Action du froid

L'emploi du froid a fourni des résultats contradictoires.

Dans les pays tempérés, on a coutume de dire que l'agent produisant l'arrêt du repos est le froid.

Ainsi, Howard (1910) constate que des pieds de vigne transportés en serre chauffée au cours de l'hiver entrent en croissance d'autant plus rapidement que la mise en serre est plus tardive. Pour lui, l'action du froid au cours du repos végétatif est d'autant plus efficace qu'il est plus intense. Mais, à mon avis, les dates de mises en serre rapportées par cet auteur sont trop tardives pour qu'il puisse tirer des résultats valables de ses expériences.

Magoon et Dix (1943) maintiennent des pieds de vigne à 7°2 C pendant des périodes variables (8 à 58 j.) avant leur mise en serre. Le temps nécessaire au début de la croissance, selon eux, diminue quand l'exposition au froid augmente. Ils prétendent même que la vigne débourre rapidement après un séjour de 8 j. à 7°2 C. Cepen-

dant, cette affirmation doit être accueillie avec réserve, étant donnée l'absence de témoin dans leurs expériences.

Branas, Bernon et Levadoux (1946) pensent aussi que des hivers longs et froids permettent à la vigne de débourrer à des températures plus basses.

Samish (1954) signale que la dormance des bourgeons de *V. labrusca* var. *Concord* est levée après un séjour de 3 500 heures à ou au-dessous de 7° C.

Huglin (1958) établit que la « somme des températures nécessaires pour provoquer le débourrement est d'autant plus réduite que les plantes ont subi une exposition au froid plus considérable ».

Pour Nigond (1961 et et b), les basses températures de 0 à 8° C sont efficaces mais se montrent cependant moins actives que celles de 18 à 25°.

Selon Pouget (1963), enfin, les températures supérieures à 1° C et inférieures à un seuil compris entre 5 et 10° C lèvent la dormance et se montrent plus efficaces en condition d'anaérobiose qu'en présence d'oxygène.

Néanmoins, d'autres résultats conduisent à des conclusions opposées. Alleweldt (1960 a) ne constate expérimentalement aucune action des basses températures sur le débourrement des bourgeons latents. Pendant 5 à 20 jours, il soumet des boutures de un à deux yeux et des vignes en pots à des températures de + 5° ou — 5° puis les place en serre chaude. Les bourgeons traités entrent en croissance, soit très peu de temps avant, soit même après les bourgeons témoins. Antcliff et May (1961) confirment les précédents résultats.

Quant à Weaver et coll. (1961), ils signalent qu'un traitement au froid (0° C pendant 2, 4 ou 6 semaines) n'avance pas le débourrement des boutures les plus précoces. Les plus longs séjours au froid augmentent seulement le pourcentage des boutures entrant en croissance.

Le comportement de la vigne sous d'autres latitudes — la Réunion, Sud-Tunisien (Rivals, communication personnelle) et Australie — semble d'ailleurs en accord avec ces dernières expériences. Certaines de ces régions ne connaissent pas de froids hivernaux. Bien que le débourrement n'y soit pas aussi synchrone que dans les pays tempérés, on y observe néanmoins l'entrée en croissance des bourgeons. Antcliff et May pensent ainsi que les bourgeons de la variété *Sultanine*, cultivée dans certaines contrées de l'Australie, n'ont pas besoin de froid pour entrer rapidement en croissance.

Les résultats concernant l'action du froid sur la levée de la dormance des bourgeons de vigne sont donc tout à fait discordants. Ils conduisent à penser, toutefois, que la rupture du repos fait intervenir d'autres mécanismes que l'action immédiate du froid.

b) Action du bain chaud et de la dessication

Depuis fort longtemps, le bain chaud a été utilisé pour le forçage des plantes (Molisch, 1908 et 1909). Chez la vigne, un tel traitement a été appliqué avec succès à des bourgeons de boutures (Weaver et coll., 1961, Pouget, 1963).

Un autre facteur physique, la dessication, a été également employé pour lever la dormance des bourgeons de vigne (Branas et coll., 1946, Pouget, 1963). Cheema, Bhat et Naik (1954) signalent même à ce propos que la mise à nu d'une partie du système radical d'une souche, pendant la période de repos, provoque et régularise l'éveil de ses bourgeons.

c) Action de diverses substances chimiques

La recherche de techniques de forçage pour la vigne a permis la découverte de nombreux composés capables d'accélérer son entrée en croissance.

Aymard (1904) mit en évidence l'efficacité de l'éther mais constata que la vigne est difficile à « éveiller ».

Parmi les dérivés des carbures d'hydrogène, la monochiorhyrine du glycol a été utilisée avec succès sur des bourgeons de divers *Vitis* (Stanton et Denny, 1929, Wurgler et coll., 1955, Huglin, 1958, Alleweldt, 1960 b, Antcliff et May, 1961, Weaver et coll., 1961). Denny (1945) puis Barbier (1952 et 1954) ont fait agir, sur tubercules de pommes de terre, un mélange liquide appelé « rindite » à base de monochlorhydrine du glycol. Chez la vigne, j'ai pu provoquer, dès 1955 (c), la levée de la dormance des bourgeons à l'aide d'un traitement à la rindite [1]. Ces résultats ont été ensuite confirmés par Pouget et Rives (1958), Alleweldt (1960 b) et Weaver et coll. (1961).

Parmi les composés organiques soufrés, la thiourée s'est montrée également capable de rompre la dormance des bourgeons de vigne (Weaver et coll., 1961).

Dans le même but, furent essayées aussi des substances telles que kinines, auxines et gibbérellines, dont le rôle a été envisagé dans de nombreux phénomènes physiologiques. Récemment, Weaver (1963) a trouvé que la benzyladénine provoque le débourrement de boutures de vigne au même titre que le bain chaud (51° C) ou la thiourée. L'application d'acide β-indolyl-acétique ou α-naphtyl-acétique s'est montrée au contraire inefficace (Huglin, 1958 et Alleweldt, 1960 a), ou a déterminé un retard de l'entrée en croissance des bourgeons (Nigond, 1960, Weaver et coll., 1961, Antcliff et May, 1961). De même, les gibbérellines prolongent la durée de la dormance des bourgeons de *Vitis* (Weaver, 1959, Rives et Pouget, 1959, Weaver et coll., 1961, Alleweldt, 1961 et Antcliff et May, 1961). Cette dernière action est curieuse, car on sait que les

---

(1) Ces expériences seront relatées au cours du chapitre 1.

gibbérellines réduisent au contraire la période de repos de diverses plantes.

En résumé, différents facteurs physiques et chimiques permettent de lever la dormance endogène des méristèmes axillaires des tiges de vigne. On doit reconnaître, cependant, que le traitement par le froid, le plus facile à appliquer, a donné lieu à des résultats bien discordants.

III. — Méristème secondaire. Etude particulière de sa « dormance »

Après avoir décrit le comportement des méristèmes primaires des tiges de vigne, il est utile d'envisager celui du méristème secondaire ou cambium, car ce tissu sera largement employé par la suite.

Je désignerai sous le nom de « rameaux ou pampres », les tiges en croissance et de « sarments », les tiges « aoûtées » sur toute leur longueur; en conséquence, les tiges de deux ans sont assimilées ici à des sarments.

Dès le début de la croissance du bourgeon, le méristème secondaire de son axe entre en divisions actives. A Toulouse, la croissance en diamètre du rameau formé se poursuit généralement jusqu'en août (cas de *Syrah* par exemple). C'est alors que commence, de façon acropète, sa maturation ou « aoûtement ». On considère généralement que l'arrêt de croissance en longueur des tiges et le début de l'aoûtement sont synchrones. Cependant, j'ai observé maintes fois que des tiges de *Rupestris du Lot,* dont l'allongement se poursuit jusqu'en septembre, commencent à mûrir à leur base, dès la fin juillet. Cet important décalage entre la fin de la croissance et le début de l'aoûtement est à retenir lorsqu'on envisage l'arrêt du fonctionnement du cambium.

De même que la **dormance** des bourgeons, celle **du cambium** a retenu l'attention des chercheurs. L'entrée en repos, la reprise de l'activité cambiale... en particulier, ont fait l'objet des études les plus nombreuses (1). Parmi les théories proposées pour expliquer le rythme saisonnier du fonctionnement du méristème secondaire, deux méritent d'être citées.

A. — PREMIERE THEORIE : ACTIVITE DU CAMBIUM DEPENDANT DE CELLE DES BOURGEONS

Le cambium aurait, selon cette théorie, un rôle passif et son activité serait le reflet de celle des bourgeons.

---

(1) Comme il existe peu de travaux sur le cambium de la vigne, j'ai été réduit à exposer surtout les données acquises chez d'autres végétaux.

C'est Strasburger (1891) qui montra, contrairement à ce qui était admis à cette époque, que la prolifération cambiale se propage des pousses vers le tronc. Le premier, Jost soupçonna le rôle des bourgeons dans la croissance de ce tissu (1891, 1892 et 1893) et prédit même l'existence d'une hormone formatrice de vaisseaux (Benecke et Jost, 1923). Snow (1933) réussit en effet à démontrer la nature humorale du stimulus produit par les bourgeons à l'aide de dispositifs expérimentaux devenus célèbres. Plus tard, Krasnosellskaja et Richter (1942) ont montré qu'un bourgeon de *Populus* ou de *Fraxinus* préalablement forcé, greffé sur une bouture dormante de la même plante, induit l'entrée en végétation des parties voisines; ils ont obtenu le même résultat en remplaçant ce bourgeon par une injection de quelques gouttes de son broyat (Ritchter et Krasnosellskaja, 1945).

Au printemps, une sorte de stimulus se propagerait ainsi à partir des bourgeons vers les racines. Le délai entre l'ouverture des bourgeons et l'apparition des premières divisions cellulaires à la base du tronc est très court chez les espèces à bois à zone poreuse, très long chez les espèces à bois à pore diffus (Wareing, 1951 b). Après son initiation, l'activité cambiale se poursuivrait grâce à la fourniture continue de substances stimulantes par la région apicale. En supprimant la production de ces dernières, l'arrêt de la croissance en longueur interromprait l'activité du cambium (Söding, 1937 et 1940, Avery, Burkholder et Creighton, 1937).

Les bourgeons en croissance synthétiseraient donc des substances hormonales actives sur la division et la différenciation de ces cellules cambiales (voir mise au point de Söding, 1961).

Si l'on admet la théorie de la passivité du cambium, on est tout naturellement amené à envisager la *nature des substances* susceptibles d'agir sur les divisions cambiales.

Bien que ces composés n'aient pas été mis en évidence dans les bourgeons en croissance de vigne, j'ai jugé utile de donner ici les résultats de recherches concernant d'autres végétaux.

a) Les auxines

Après la découverte et l'isolement des auxines, on pensa qu'elles étaient précisément les hormones de division cambiales. A la suite de Snow (1935, 1937), de nombreux auteurs ont cru pouvoir affirmer que l'acide β-indolyl-acétique serait la substance élaborée par l'apex et responsable de la division cambiale. A titre d'information, je citerai les travaux de Thimann et Skoog, 1934, Söding, 1937, Tackett et Bailey, 1958, Van Overbeek, de Vasquez et Gordon, 1947, Gunckel et Thimann, 1949, Wetmore et Pratt, 1949, Blommaert, 1955... L'ester éthylique de l'acide β-indolyl-acétique aurait été également décelé dans les bourgeons de certaines espèces (Blommaert, 1955). Grâce à une étude anatomique poussée, Camus (1949) montra que le facteur issu des bourgeons en croissance et induisant la prolifération cambiale provoque aussi la

formation d'éléments cribro-vasculaires ; selon cet auteur, l'agent histogène en question est également l'auxine.

La synthèse d'auxine par les bourgeons étant admise, un certain nombre de problèmes se posent : dans le cas des arbres, par exemple, les auxines ainsi produites sont-elles capables de réactiver le cambium des organes les plus éloignés tels que les racines ? Si oui, par où cheminent-elles ?... Je me bornerai à indiquer brièvement ici quelques hypothèses. Selon Söding (1937 et 1961), la substance de croissance provenant des bourgeons serait consommée dans les pousses sous-jacentes. La croissance en diamètre qui en résulte entraînerait la libération de nouvelles substances de croissance qui se dirigeraient alors vers le bas. Ainsi, de proche en proche, des auxines parviendraient aux racines. Ajoutons toutefois que, pour être admise, cette théorie demande à être étayée par de nouvelles preuves. Quant à Wareing (1951 b), il pense que le cambium de certaines espèces d'arbres possède une grande réserve de précurseurs auxiniques. Le gonflement des bourgeons activant ces derniers, le méristème secondaire renfermerait soudain de grandes quantités de substances de croissance.

Mais, comme on le pressentait depuis longtemps, la division cellulaire se trouve sous la dépendance d'autres substances que les auxines. Dès 1940, Söding avait constaté que des rognures de cambium extrait de branches d'érable agissent sur les divisions cambiales d'*Helianthus* beaucoup plus intensément que l'AIA qu'elles contiennent (dosé au test courbure d'avoine). Künning (1950), puis Winter (1954) attribuèrent un rôle prépondérant à des « substances spécifiques de division » et différentes des auxines, telles que aneurine, acide ascorbique...

b) Les gibbérellines et les kinines

Je crois utile de donner plus de détails pour les composés dont l'action physiologique préoccupe, depuis quelques années, un grand nombre de chercheurs. Dans les tableaux 1 et 2, sont groupés les résultats des travaux se rapportant plus spécialement à l'action des gibbérellines et de la kinétine (6-furfuryladénine) sur la division cellulaire des végétaux. On peut y constater que leurs réactions sont variables selon l'espèce étudiée, le fragment utilisé, la dose appliquée... Ces substances agissent d'ailleurs souvent en synergie avec d'autres corps. La kinétine, par exemple, est inactive lorsqu'elle est employée seule et doit être associée à l'AIA.

En ce qui concerne la différenciation, il n'est pas sans intérêt de rappeler que, selon Wareing (1958), l'AIA agirait sur ce phénomène et l'acide gibbérellique sur la division des cellules. Pour Netien (1959) et Gautheret (1961), au contraire, l'AIA ne posséderait qu'une faible action différenciatrice, tandis que l'acide gibbérellique exalterait considérablement le développement des formations cribro-vasculaires.

TABLEAU 1

Action des gibbérellines sur la division cellulaire

Abréviations employées : AIA = Acide β-indolyl-acétique
ANA = Acide α-naphtyl-acétique
2-4-D = Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique
HC = Hydrolysat de caséine.
Ss cult. = Culture secondaire

	Espèces végétales	Plantes, organes, tissus	Doses ppm	Auteurs
	GIBBÉRELLINES SEULES			
STIMULATION	*Allium Cepa*	Cell. différenciée rac. pl. entière.		KATO 1955
	id.	Rac. pl. ent.	1	MC MANUS 1960
	Hyoscyamus			SACHS et coll. 1957
	Hyoscyamus niger et Samolus parviflorus	Cell. tige pl. ent.		SACHS et coll. 1959 LANG et coll. 1959
	Narcissus tazetta	Cell. différenciée rac. pl. ent.		LEIVONEN 1958
	Armeniaca vulgaris	Tige de pl. ent.		BRADLEY et coll. 1957
	Acer pseudoplatanus	Tige de pl. ent.		WAREING 1958
	Phaseolus vulgaris	id.		GREULACH et coll. 1958
	Populus nigra et Fraxinus excelsior	Bouture		WAREING 1958
	Allium Cepa	Anthère excisée		VASIL 1957
	Helianthus tuberosus	Cult. prim. parench. tubercule.	1	NETIEN 1957
	Citrus medica	Cult. prim. mésocarpe	5	SCHROEDER et coll. 1957
	Nicotiana Tabacum	Ss cult. crown-gall tige	10	NICKELL 1958
	Melilotus officinalis	id.		id.
	id.	Ss cult. crown-gall racine		id.
ACTION NULLE	*Allium Cepa*	Cell. diff. rac. pl. ent.		BERGER 1957
	Tradescantia	Poils staminaux pl. ent.		WADA 1948
	Bryophyllum, Phaseolus	Pl. décapitée		SUMIKI 1952
	Helianthus annuus, Lycopersicum	id.		KATO 1953 et 1955
	Vicia, Lycopersicum	id.		BRIAN et coll. 1955
	Helianthus tuberosus	Cult. prim. parench. tuberc.	10	NETIEN 1957
		id.	0,01-10	GAUTHERET 1961
		id.	10^{-7}-10^{-6} M	NITSCH et coll. 1962

	Espèces végétales	Plantes, organes, tissus	Doses ppm	Auteurs
INHIBITION	*Allium Cepa*	Cell. rac. pl. ent.	100	Kato 1955
	id.	id.	10	Mc Manus 1960
	Helianthus tuberosus	Cult. prim. parench. tubercule.	50	Netien 1957
	Rubus	Cult. prim. tige	1-50	Netien 1958
	Scorzonera	Ss. cult. crown-gall	1-50	id.
	Helianthus annuus	id. (pétiole)	10	Nickell 1958
	Vinca rosea	id. (tige)	10	id.
	Opuntia	id. (tige)	10	id.
	Helianthus annuus	id.	0,2-200	Henderson 1958

Gibbérellines en présence d'autres substances

	Espèces végétales	Plantes, organes tissus	Doses ppm	Autres substances ppm	Auteurs
STIMULATION	*Populus nigra* et *Fraxinus excelsior*	Bouture		AIA	Wareing 1958
	Helianthus tuberosus	Cult. prim. parench. tubercule	50	ANA 0,3	Netien 1958
	id.	id.	0,1-10	AIA 10-20	Netien 1959
	id.	id.	0,1-1	AIA 1	Gautheret 1961
	Citrus medica	Cult. prim. méso-carpe	0-25	AIA	Schroeder et coll. 1957
	Cupressus funebris	Ss cult. cône mâle	0,5-2	HC 2	Straus et coll. 1960
	Diverses espèces	Ss cultures			Nickell et coll. 1958
ACTION NULLE	*Helianthus tuberosus*	Cult. prim. parench. tubercule	1-10	ANA 0,3 2-4-D 0,3	Netien 1958
	Helianthus annuus	Ss cult. tissu accoutumé	1-10		Henderson 1958
	Diverses espèces	Ss cultures			Nickell et coll. 1958
INHIBITION	*Phaseolus vulgaris*	Pl. entière	0,5-1	ANA 0,1 %	Kato 1958
	Helianthus tuberosus	Cult. prim. parench. tubercule	1-50	AIA 0,1-1	Netien 1957, 1959
	Daucus Carota	Cult. prim. rac.	1-50	AIA 0,3	Netien 1958
	Cupressus funebris	Ss cult. cône mâle	0,5-2	AIA 0,5	Straus et coll. 1960
	Daucus Carota	Ss cult. cal rac.	50-100	AIA 10	Bergmann 1958
	Helianthus annuus	Ss cult. crown-gall	0,2-200		Henderson 1958
	Diverses espèces	Ss cultures			Nickell et coll. 1958.

TABLEAU 2

Action de la kinétine sur la division cellulaire

KINÉTINE SEULE

	Espèces végétales	Plantes, organes, tissus	Doses	Auteurs
STIMULATION	*Allium Cepa*	Mérist. rac. pl. ent.	0,5-1 ppm	GUTTMAN 1956
	Helianthus tuberosus	Cult. prim. parench. tubercule	3.10^{-6} M 3.10^{-5} M	NITSCH et coll. 1957
	Daucus Carota	Cult. prim. rac.		SHANTZ et coll. 1958
		id.		OLZEWSKA et coll. 1957
	Solanum tuberosum	Cult. prim. tuberc.		id.
	Brassica	Cult. prim. tige		id.
	Pisum	Ss cult. cal de rac.		TORREY 1958 1961
ACTION NULLE	*Helianthus tuberosus*	Cult. prim. parench. tubercule	0,1-10 ppm	SHANTZ et coll. 1958 GAUTHERET 1961
INHIBITION	*Allium Cepa*	Rac. de pl. ent.	5.10^{-6} M	GUTTMAN 1956
	id.	id.	1-10 ppm	MC MANUS 1960
	Allium Cepa, Phaseolus vulgaris	id.	10^{-5}-2.10^{-4}	SUPNIEWSKA 1958
	Allium sativum	id.	10^{-8} M	DEYSSON *a* et *b* 1959

KINÉTINE EN PRÉSENCE D'AUXINE

	Espèces végétales	Plantes, organes, tissus	Doses ppm	Auxine ppm	Auteurs
STIMULATION	*Nicotiana Tabacum*	Cult. prim. parench. moelle			MILLER et coll. 1956, DAS et coll. 1956
	Daucus Carota	Cult. prim. phloème racine			SHANTZ et coll. 1958
	Helianthus tuberosus	Cult. prim. parench. tubercule	0,1-10	AIA 10^{-7} M AIA 0,01-10	NITSCH et coll. 1957 GAUTHERET 1961
	Nicotiana Tabacum	Ss cult. cal tige	100	AIA 2	MILLER et coll. 1955
	Soja	Ss cult. cal cotylédon			MILLER 1960

Il était normal de rechercher simultanément la présence de telles substances dans les tissus en division et en particulier dans les bourgeons.

Des gibbérellines ou des composés voisins ont été décelés dans des graines (Mitchell, Skaggs et Anderson, 1951, West et Phinney, 1956, Phinney, West, Ritzel et Neely, 1957, Nitsch, 1958, Mac Millan et Suter, 1958, West et Phinney, 1959...), des inflorescences (Lona, 1957), des plantules (Radley, 1958), des extrémités apicales de tiges (Margara et Morel, 1960, Hayashi, Blumenthal-Goldschmidt et Rappaport, 1962, Manzelli, Adler et Merritt, 1962). Dans des bourgeons axillaires d'espèces ligneuses prélevés au cours du repos végétatif, Netien (1963) vient également de déceler la présence d'une substance agissant sur l'élongation des tiges de pois nain.

Quant à la kinétine, isolée à partir de l'acide désoxyribonucléique du sperme de hareng (Miller et coll., 1955 et 1956), elle n'a pas été mise en évidence chez les végétaux. Ces derniers renfermeraient, par contre, des « kinines », c'est-à-dire des substances qui, comme la kinétine, provoquent en présence d'AIA la division des cellules de la moelle de tabac. Des kinines ont été décelées dans le liber interne de la tige de tabac (Jablonski et Skoog, 1954), dans le jus de tomate (Nitsch, 1960 a), dans la racine de *Cichorium endivia* (Vardjan et Nitsch, 1961), dans le lait de coco (Kovoor, 1962)... Du « lait de maïs », Beauchesne (1961) a isolé une purine voisine de l'adénine (1) se comportant comme une substance de division.

Actuellement, les kinines sont l'objet de nombreuses recherches.

B. — DEUXIEME THEORIE : ACTIVITE DU CAMBIUM NE DEPENDANT PAS DE CELLE DES BOURGEONS

Bien que la théorie précédente paraisse fondée sur un ensemble cohérent de données, un certain nombre d'auteurs ne l'admettent pas. Ils pensent que l'activité du méristème secondaire n'est pas nécessairement sous le contrôle direct du méristème primaire. Comment expliquer, par exemple, que des arbres élagués manifestent une croissance en diamètre (Hartig, 1892) ? La taille des sujets en observation laissait toutefois planer un doute sur la rigueur avec laquelle avaient été conduites ces expériences. Mais Wareing a confirmé partiellement ces constatations. Il a montré, en effet, que, chez les espèces à bois à zone poreuse telle que *Fraxinus excelsior*, l'absence de bourgeons n'empêche pas l'entrée en division du cambium du tronc (1950). Dans ce cas, Wareing pense que l'auxine produite par les yeux adventifs entrant en crois-

(1) Quant à l'adénine, elle se montre sans action ou presque sur la callogenèse (Skoog et Tsui, 1948, Mayer, 1956). Ajoutons d'autre part qu'un certain nombre de dérivés de substitution des purines exercent des actions variées sur la division cellulaire (Strong, 1958, Beauchesne et Goutarel, 1963).

sance après l'ébourgeonnage suffirait à provoquer l'activité cambiale. Le même auteur a observé, par ailleurs, que les divisions du méristème secondaire de pousses de *Pinus sylvestris* ne sont pas interrompues par l'ablation des bourgeons (1951 a). D'autres faits ne peuvent pas être expliqués à l'aide de la théorie de la dépendance bourgeon-cambium. Il arrive ainsi que, au printemps, les divisions du méristème secondaire apparaissent en un point quelconque du tronc ou des branches et se poursuivent vers le bas ou vers le haut (Söding, 1961)... L'initiation de l'activité cambiale peut également précéder le gonflement des bourgeons (*Fraxinus excelsior*)...

Il est possible d'ailleurs, chez certaines espèces, de dissocier le fonctionnement du cambium de celui de l'apex. C'est ainsi que leur cambium, seul, réagit à l'action de la longueur du jour (Wareing, 1949, et Zelawski, 1956). En jours courts, par exemple, Wareing et Roberts (1956) constatent l'arrêt de la croissance en longueur des tiges et de la division des cellules cambiales de plantules de *Robinia Pseudacacia*. Si ces dernières sont alors mises en jours longs, seule reprend l'activité cambiale sans départ des bourgeons. Cette expérimentation corrobore des observations effectuées depuis longtemps : on sait en effet que, chez diverses espèces ligneuses, les divisions du méristème secondaire peuvent se poursuivre pendant un certain temps après l'interruption de croissance de l'apex (Büsgen, 1929, Wight, 1933, Wareing, 1951 a). Ici, tout se passe comme si l'entrée en repos du cambium n'était pas liée à celle des bourgeons.

D'autre part, Gouwentak (1941) a cru apporter un argument en faveur de la théorie selon laquelle l'activité du cambium ne serait pas nécessairement sous la dépendance directe de celle des bourgeons. Elle a trouvé que l'auxine appliquée sur des boutures de frêne prélevées en hiver est incapable de provoquer la formation de couches de xylème; cette substance devient active si la dormance des boutures a été préalablement levée à l'aide d'un traitement à l'éthylène chlorhydrine. Ce double traitement se montrant également efficace sur des boutures dépourvues de bourgeons, Gouwentak en a déduit que le cambium possède une dormance propre.

C. — COMPORTEMENT *IN VITRO* DU CAMBIUM PRELEVE EN HIVER

Nous devons constater que, si la théorie de la dépendance bourgeon-cambium a la faveur d'un grand nombre d'auteurs, certains arguments de la théorie de la non-dépendance paraissent solides. Des auteurs ont pensé que la culture *in vitro* du tissu cambial, prélevé au cours du repos végétatif, permettrait de recueillir des données supplémentaires susceptibles d'éclairer ce problème. Est-ce que, par exemple, le cambium peut se diviser *in vitro* lorsqu'il est récolté à une époque quelconque du repos ? Les différences dans le potentiel de croissance des tissus prélevés à divers moments

se traduisent-elles par des différences qualitatives ou quantitatives dans le développement des cultures stériles ?

Des auteurs ont mis en culture des fragments de cambium de tronc, ou de tige âgée de plus d'un an, plus ou moins accompagnés de phloème et de xylème ou parfois des segments de tige d'un an (tableau 3).

Les fragments de cambium de tige âgée sont en général capables de proliférer s'ils sont cultivés dans un milieu simple. Sussex et Clutter (1959) ont étudié l'aptitude à la croissance de tissus prélevés à divers moments du repos végétatif, mais leurs essais ont, il est vrai, porté sur des explantats de phloème. Ils ont observé, au fur et à mesure que les prélèvements se rapprochent du départ des bourgeons, une augmentation de la croissance, qui est cependant indépendante de la rupture de leur dormance. Le phloème ne présenterait donc pas une période de dormance analogue à celle des bourgeons, mais seulement une périodicité de croissance ; celle-ci ne serait d'ailleurs pas liée au rythme de développement des bourgeons. Des auteurs ont par ailleurs signalé que, chez un certain nombre d'espèces, des fragments de cambium de tige âgée restent inaptes aux divisions, même en présence de substances de croissance.

Quant aux segments de jeunes tiges, il est rare qu'ils puissent proliférer dans des milieux simples. Mais leur cambium est souvent réactivé en présence de substances de croissance. Néanmoins, chez certaines espèces du genre *Vitis*, notamment, il se montre rebelle à toute prolifération, même lorsque le milieu contient divers composés habituellement stimulants (Morel, 1948). Après avoir constaté que le cambium se divise lorsqu'il est prélevé au cours de la période de végétation active, Morel conclut à l'existence d'une relation entre l'activité de la plante productrice des fragments et l'aptitude du cambium à proliférer (1).

On doit donc constater qu'en dépit de la diversité des réactions observées, la culture *in vitro* des tissus prélevés lors du repos végétatif fournit de précieux renseignements (2).

---

(1) Dans le même ordre d'idées, Buis (1959) a maintenu en conditions non stériles des boutures d'arbres prélevées pendant le repos végétatif et sur lesquelles il avait effectué des plaies. Il a obtenu ainsi, selon les essences, des tissus de cicatrisation de volumes très différents.

(2) Après la rédaction de ce mémoire, m'est parvenue une publication relative à la formation de cal *in vitro* chez 34 espèces d'arbres. L'auteur étudie ainsi l'effet de l'AIA et également l'activité saisonnière du cambium (Bytchenkova E. A. — 1963. The study of proliferation of cambium and parenchyma of branches from trees in cultures *in vitro*. *Biologia Plantarum* (*Praha*), 5 (4), 302-309).

TABLEAU 3

Comportement en culture aseptique de fragments de tiges appartenant à diverses espèces ligneuses et prélevés pendant le repos végétatif.

C : fragment de cambium de tige âgée de plus d'un an.
T : segment de tige d'un an.

Espèces	Tissu prél.	Milieux	Auteurs
1 - *Incapables de proliférer*			
Ailanthus glandulosa	C	Sans auxine	Gioelli 1938
Sambucus nigra	C	Sans auxine	Jacquiot 1951 a
Populus tremula *Betula verrucosa* *Fagus sylvatica*	C	Avec auxine	Jacquiot 1956
Acer rubrum	C	Avec auxine, vitam. et lait de coco	Sussex et Clutter 1959
Salix, Syringa, Pirus et *Crataegus*	T	Sans auxine	Gautheret 1959
Parthenocissus tricuspidata et toutes variétés de *Vitis* étudiées	T	Avec auxine	Morel 1948
2 - *Capables de proliférer*			
Sterculia platanifolia et *Ulmus campestris*	C	Sans auxine	Gioelli 1938
Ulmus campestris, Castanea vesca, Quercus	C	Sans auxine	Jacquiot 1956
Gingko biloba, Salix babylonica, Populus nigra var. *italica, Ailanthus glandulosa, Fraxinus américana, Catalpa bignonioides, Robinia pseudacaccia.*	C	Sans auxine	Sussex et Clutter 1959
Sambucus nigra	C	Avec ac. pantothénique	Jacquiot 1951 a
Parthenocissus tricusp.	T	?	Kovoor 1960
Quercus sessiliflora	C	Avec auxine et vitam.	Barnoud 1956
Populus euamericana et *Populus deltoides*	T	Sans auxine	Chardenon et Taris 1960
Salix, Syringa, Pirus et *Crataegus*	T	Avec auxine	Gautheret 1959

⁂

Au terme de cette longue mise au point, nous pouvons retenir que les bourgeons de la vigne, qui nous intéressent plus particulièrement, passeraient par plusieurs phases durant le repos végétatif. Nous devons reconnaître que le passage de l'une à l'autre n'est pas toujours bien délimité; il est influencé, en effet, par des conditions physiques externes difficiles à préciser. Pour une autre raison encore, l'unanimité des chercheurs n'a pu se faire quant au nombre de ces phases et à la durée respective de chacune d'elles : il s'agit du choix du caractère permettant d'estimer qu'un bourgeon est dormant ou non. Selon les auteurs, en effet, les temps nécessaires au débourrement de bourgeons non dormants sont très variables, puisqu'ils vont de 5 à 45 jours. Il apparaît ainsi qu'un bourgeon peut être considéré comme dormant par les uns et non dormant par les autres. De ce fait, le nombre et la durée des phases de la dormance se trouveront réduits ou augmentés.

Au cours de mes recherches, un bourgeon latent sera considéré comme non dormant *s'il se comporte,* en conditions externes favorables à croissance, *comme un bourgeon prélevé pendant la période de pleine activité de la vigne et soustrait à la seule inhibition par corrélation.*

Un méristème secondaire sera considéré comme apte à se diviser *si, cultivé in vitro dans un milieu renfermant uniquement des sels minéraux et un sucre, il forme des cals.*

A l'aide de ces caractéristiques, je me suis proposé d'apporter une contribution à l'étude d'un certain nombre de questions telles que :

— comportement des bourgeons et du cambium de tiges de *Vitis* prélevés à différentes époques;

— levée de la dormance des bourgeons, compte tenu des résultats discordants mentionnés précédemment;

— activation d'un méristème secondaire inapte à se diviser dans les conditions définies ci-dessus;

— dépendance ou indépendance de l'activité du méristème secondaire.

Dans la première partie de cette étude, j'ai réuni les résultats des expériences relatives à ces problèmes.

CHAPITRE II

DORMANCE DES BOURGEONS DE VIGNE

Etude, à Toulouse, de la dormance des bourgeons de vigne à l'aide de deux caractéristiques : la rapidité et l'homogénéité du débourrement des bourgeons de boutures mises en serre. Essais de levée de dormance par le froid et la rindite.

I. — Protocole expérimental

Des segments à un œil provenant de tiges récoltées à différentes époques sont plantés verticalement (bourgeons dirigés vers le haut), dans des terrines remplies de sable maintenu humide, puis mises en serre réglée à 20°C. En général, les prélèvement sont effectués sur deux à trois tiges par essai et comptent 20 à 30 boutures à un œil pour chaque tige. Selon l'époque de récolte et le niveau des boutures sur la tige, ces dernières sont, soit aoûtées, soit herbacées. Le nombre de bourgeons entrés en croissance (stade B du débourrement selon Baggiolini, 1952) est relevé tous les jours.

En ce qui concerne l'étude de l'action du *froid,* le mode opératoire est le suivant : des boutures de 40 cm environ de *Rupestris du Lot, Riparia Gloire* et *Vitis vinifera* variété *Syrah* sont prélevées à la chute des feuilles et partagées en plusieurs lots. Les boutures du premier lot sont débitées ou non en boutures à un œil et plantées en serre. Les boutures des autres lots sont paraffinées, puis soumises, dans des récipients, à la température de 1 ou 10°C. Périodiquement et simultanément, des boutures sont prélevées dans chacun de ces lots, fragmentées ou non en boutures à un œil et plantées en serre chaude à côté des premières.

Pour l'étude de l'action de la *rindite* (7/11 de monochlorhydrine du glycol, 3/11 de dichlorure d'éthylène, 1/11 de tétrachlorure de carbone [Denny, 1945]), le protocole expérimental est le suivant : des boutures récoltées et paraffinées comme précédemment sont placées pendant 48 heures dans des récipients fermés hermétiquement, contenant 0,3 ml ou 0,5 ml de rindite par litre et maintenus à 22°C. Elles sont ensuite aérées durant quelques heures puis plantées en serre, soit entières, soit après fragmentation en boutures à un œil.

Pour exprimer leurs résultats, certains auteurs se sont bornés à compter le nombre de jours nécessaires au débourrement de

50 % des bourgeons (DD 50). Le tableau 4 montre que les nombres de jours trouvés pour 50 % des bourgeons peuvent être, soit relativement voisins de ceux notés pour 75 et 90 % (tiges 1 et 3), soit très différents (tiges 2 à 4). Il semble donc qu'un pourcentage donné choisi arbitrairement ne renseigne pas suffisamment sur l'intensité de la dormance des bourgeons d'une tige, évaluée en « jours de délai nécessaire au débourrement ».

TABLEAU 4

Nombre de jours nécessaire au débourrement des bourgeons (80 bourgeons par série)

% / Séries	10 %	25 %	30 %	75 %	90 %
1	10	11	27	33	34
2	15	19	26	46	53
3	14	16	23	29	29
4	44	47	52	65	73

J'ai préféré donner les nombres de jours nécessaires au débourrement de 10 et 90 % des bourgeons entrés en croissance pour obtenir une image plus précise de la réalité. Les critères retenus pour juger de l'état des bourgeons sont donc la précocité et l'homogénéité du débourrement. Pour estimer l'état d'activité d'un bourgeon, je prends comme référence le temps nécessaire à l'entrée en croissance d'un bourgean latent prélevé pendant la période de végétation active et soustrait aux inhibitions de corrélation, dans les conditions externes définies plus haut. Or, 90 % de tels bourgeons débourrent ensemble en moins de 10 jours. Aussi, je considère comme non dormants au moment du prélèvement, les bourgeons d'une tige débourrant tous ensemble moins de 10 jours après la plantation; cette période d'activité intragemmaire serait le maximum nécessaire aux divisions cellulaires et à l'agrandissement des ébauches foliaires aboutissant à l'écartement des écailles. Si les départs exigent plus de 10 jours et si le débourrement est échelonné, j'admets que les bourgeons étaient encore dormants au moment de la récolte (1).

(1) Pour caractériser l'état non dormant des bourgeons, Nigond (1961 b) a même adopté dans ses expériences le temps de 120 heures. A l'aide de ce critère, il pense pouvoir distinguer deux phases dans la dormance de l'*Aramon* cultivé dans le Languedoc : l'une d'installation et l'autre de levée de dormance.

II. — Comportement des bourgeons de boutures herbacées et aoûtées

Dans la figure 2 sont consignés un certain nombre des résultats obtenus au cours de cette expérimentation.

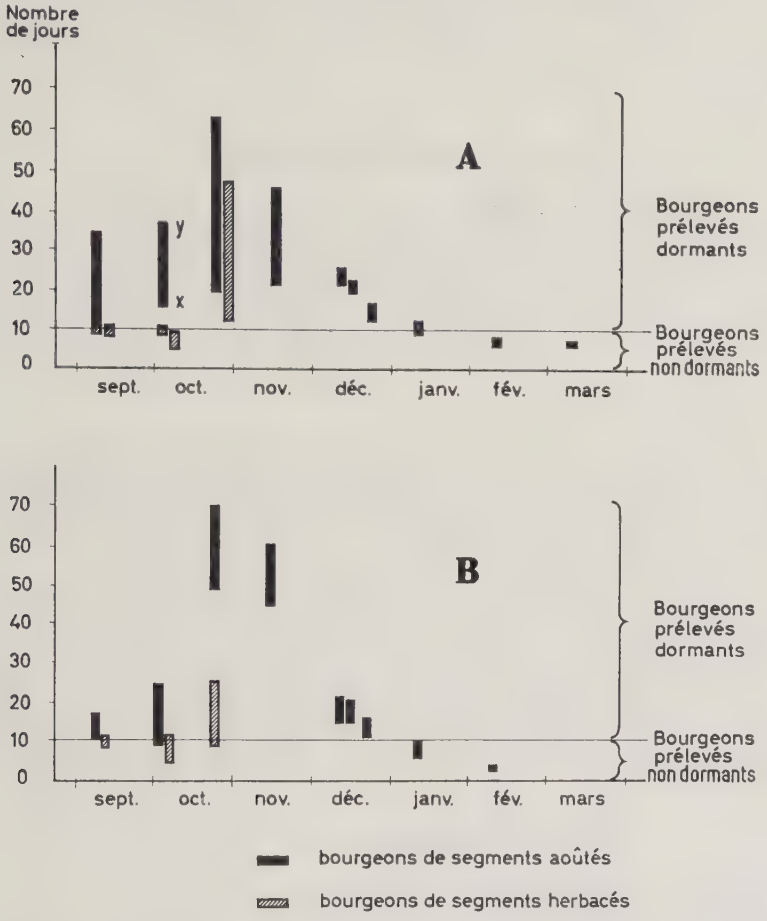


FIG. 2. — *Temps nécessaire au débourrement des bourgeons de boutures à un œil, aoûtées ou non, prélevées à différents moments : A,* Rupestris du *Lot, B,* Riparia Gloire. *La base des segments figuratifs correspond à* 10 % *des bourgeons ayant débourré après X jours, leur sommet à* 90 % *après Y jours.*

A. — BOUTURES HERBACEES

Les bourgeons des boutures récoltées sur des tiges restées entièrement herbacées de *Rupestris du Lot,* en septembre et début octobre, entrent en croissance en moins de 10 jours. Il en est de même pour les bourgeons prélevés sur les parties vertes des tiges

partiellement aoûtées de *Rupestris du Lot* et de *Riparia Gloire*. Aucun de ces bourgeons n'était donc dormant au moment du prélèvement. Lorsque la récolte des boutures a lieu plus tard (fin octobre) on voit augmenter la période de latence avant débourrement des bourgeons et leur départ devient très hétérogène.

Chez *Syrah*, les bourgeons des parties herbacées prélevées fin septembre sont déjà dormants (débourrement en 14-25 jours); mais leur dormance est cependant moins profonde que celle des bourgeons des portions aoûtées inférieures (débourrement en 46-65 jours).

B. — BOUTURES AOUTEES

Les bourgeons prélevés sur les parties aoûtées des tiges connaissent leur période de repos le plus profond à la fin octobre et en novembre. En décembre, les départs sont plus rapides et plus homogènes, mais les bourgeons sont toujours dormants, puisqu'ils ne commencent à croître que plus de 10 jours après leur mise en serre. Dès janvier, les temps de latence sont inférieurs à 10 jours et les débourrements sont nettement groupés : la dormance est totalement levée.

On pourrait critiquer le mode opératoire qui consiste à prélever des boutures à un œil. Il est en effet connu depuis longtemps que divers traumatismes permettent de lever partiellement la dormance (Weber, 1911, Haberlandt, 1921). Les boutures utilisées présentent deux plaies et parfois une autre à la base de l' « anticipé » éliminé. Pour pallier cette objection, j'ai utilisé des boutures plus longues, comportant plusieurs bourgeons (5) pour la même surface de plaies. Cette expérimentation a permis de montrer qu'à un moment donné, quel que soit le nombre de bourgeons laissés sur les boutures, le temps nécessaire au débourrement est le même.

Les résultats relatifs à la variété *Rupestris du Lot*, qui a été la plus utilisée dans cette étude, sont schématisés dans la figure 3.

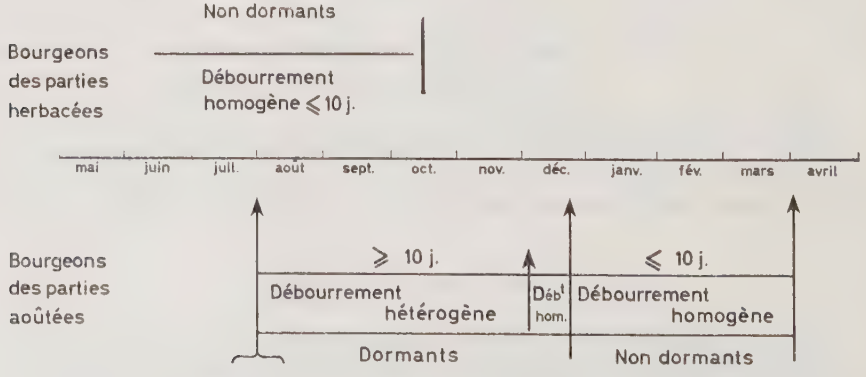


Fig. 3. — *Phases de la dormance des bourgeons de* Rupestris du Lot, *à Toulouse.*

III. — Essai de levée de dormance par le froid

Etant donnés les résultats discordants mentionnés plus haut, l'étude de l'action du froid sur les bourgeons de vigne présentait un intérêt. En outre, la recherche de l'influence des méristèmes primaires sur l'activité du cambium m'obligeait à disposer, en tout temps, de tiges pourvues de bourgeons prêts à entrer en croissance. Dès lors, il était donc indispensable, à certaines époques, de provoquer la levée artificielle de la dormance des bourgeons.

Des expériences antérieures, effectuées à partir du 5 novembre 1957, m'avaient amené à conclure (1961) que l'action du froid (1°C) abrège le temps nécessaire au débourrement des bourgeons de *Rupestris du Lot* et de *Riparia Gloire*. Toutefois, en évaluant le temps nécessaire au débourrement des bourgeons traités ou non à partir du moment de leur mise en serre (tableau 5), j'omettais de faire intervenir la longue durée du séjour préalable au frigidaire. Pendant ce temps, certaines modifications biochimiques du bourgeon avaient pu se produire, aussi bien au froid qu'à la température de la serre.

TABLEAU 5

Nombre de jours nécessaire au débourrement de bourgeons de boutures à un œil, récoltées le 5 novembre 1957 et traitées par le froid (1° C).

Variété	Durée traitement (en jours)	Temps nécessaire au débourrement (en jours)			
		Boutures traitées		Boutures non traitées	
		10 %	90 %	10 %	90 %
Rupestris du Lot	12	22	42	31	56
	30	21	24		
Riparia Gloire	12	25	43	35	56
	30	22	28		

Il m'a semblé alors utile de procéder à de nouvelles expériences et j'ai fait appel ici à la variété *Syrah* pour laquelle je disposais de boutures plus nombreuses. J'ai donc étudié l'action des températures de 1° et 10°C, encadrant la température de 7° considérée par certains auteurs comme un seuil. Le tableau 6 et la figure 4 donnent les résultats obtenus.

Les temps nécessaires à l'entrée en croissance des bourgeons récoltés au début de novembre et préalablement soumis aux températures de 1° et 10°C, pendant des temps variés, sont tout à fait comparables entre eux. Si le froid (température inférieure à 7° C, selon Samish, 1954) était efficace sur la levée de dormance, les températures de 1 et 10° C choisies dans nos expériences auraient

dû provoquer de notables écarts dans les débourrements. Ceci montre que, sous les conditions de *basses températures constantes*, la *dormance* des bourgeons des vignes expérimentées *n'est pas levée.*

Ces résultats ne peuvent être généralisés et étendus aux conditions naturelles du fait des amplitudes thermiques diurnes, mais nous pouvons cependant nous demander si le froid de l'hiver présente une action déterminante sur la levée de dormance. Il a été indiqué au chapitre I que la vigne a été introduite et se trouve parfois cultivée dans des régions où les froids hivernaux sont faibles. Si cette plante avait un besoin absolu de température inférieure à 7°C pour rompre sa dormance, on ne comprendrait pas qu'elle s'y soit installée et continue à y être cultivée.

TABLEAU 6

Temps, en jours, s'écoulant entre la plantation en serre chaude et le débourrement de boutures à 5 yeux de Syrah, *traitées par le froid.*

Durée traitement (en jours)	Temps nécessaire au débourrement					
	des boutures soumises à				des boutures témoins plantées le jour du prélèvement (2/11/1958)	
	1°		10°			
	10 %	90 %	10 %	90 %	10 %	90 %
30	32	45	30	44		
61	12	21	13	23	49	74
92	11	20	14	22		
125	8	8				

D'autres conclusions peuvent être tirées de cette expérience.

Nous constatons qu'après un très long séjour à 1°C (125 jours), tous les départs se produisent simultanément en 8 jours, sans pour autant pouvoir les attribuer à l'action directe du froid appliqué; à cette date, en effet, les bourgeons des tiges non traitées avaient déjà débourré depuis 65 jours !...

Les boutures témoins sont entrées en croissance 69 jours après leur prélèvement, tandis que celles, récoltées à la même date et soumises aux froids de 1 à 10° C, réclament 68 jours après un traitement de durée inférieure à 60 jours, 135 jours pour un traitement de durée supérieure à 80 jours. Autrement dit, les boutures traitées par le froid débourrent au même moment de l'année que les boutures témoins, ou plusieurs jours après si la période du traitement au froid est démesurément allongée. On arrive ainsi à la conclusion que les basses températures de 1 à 10° C sont inefficaces pour rompre la dormance. Un tel comportement fait plutôt penser à un phénomène à cycle endogène dont l'étude pré-

cise devrait être abordée avec les moyens et techniques utilisés par S. Jerebzoff (1961) pour l'étude de phénomènes périodiques chez les champignons.

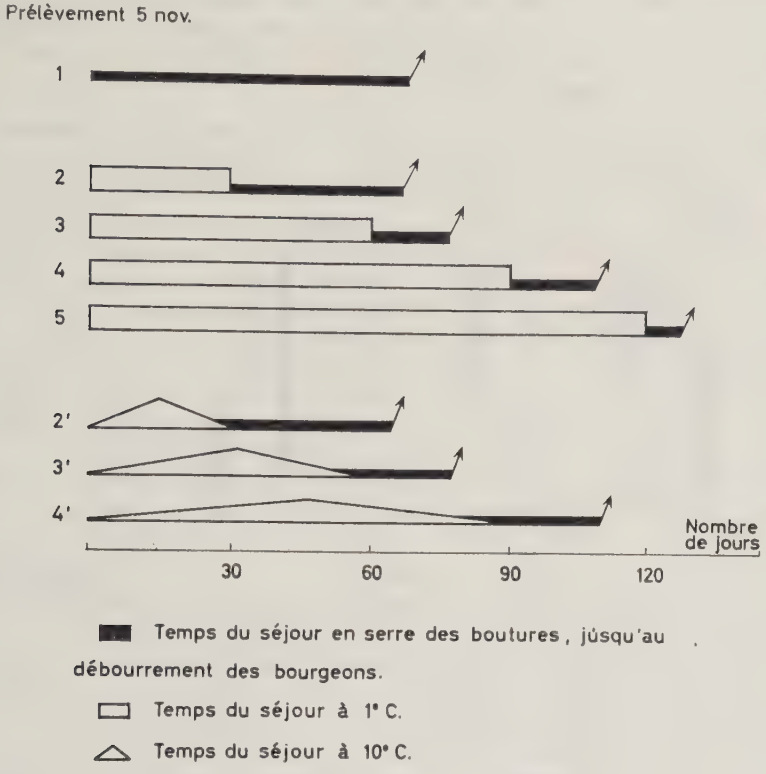


Fig. 4. — *Schéma permettant de comparer les temps nécessaires à l'entrée en croissance de bourgeons de* Syrah *appartenant à des boutures plantées immédiatement après prélèvement ou traitées avant plantation à différentes températures. Pour cette représentation schématique, c'est le temps moyen des deux temps extrêmes nécessaires pour le débourrement des bourgeons qui a été utilisé.*

J'ajouterai que la valeur moyenne de 8 jours, dont il a été question plus haut, correspond certainement à un « seuil », temps nécessaire aux divisions cellulaires et à la croissance intragemmaire du bourgeon aboutissant au stade B du débourrement. Nous retrouvons, ici, sensiblement le même temps que celui nécessaire au débourrement d'un bourgeon cessant d'être soumis à une inhibition par corrélation.

IV. — Essai de levée de dormance par la rindite

Dans le cas de boutures à un œil, les bourgeons de *Rupestris du Lot* témoins présentent un débourrement échelonné, alors que

ceux de boutures traitées par la rindite sont entrés en croissance simultanément (fig. 5).

Dans le cas des boutures à 5 yeux, le départ des bourgeons traités début novembre est encore relativement homogène et plus ou moins rapide selon les variétés ; par contre, les bourgeons témoins des mêmes variétés entrent en croissance beaucoup plus tard et d'une façon hétérogène.

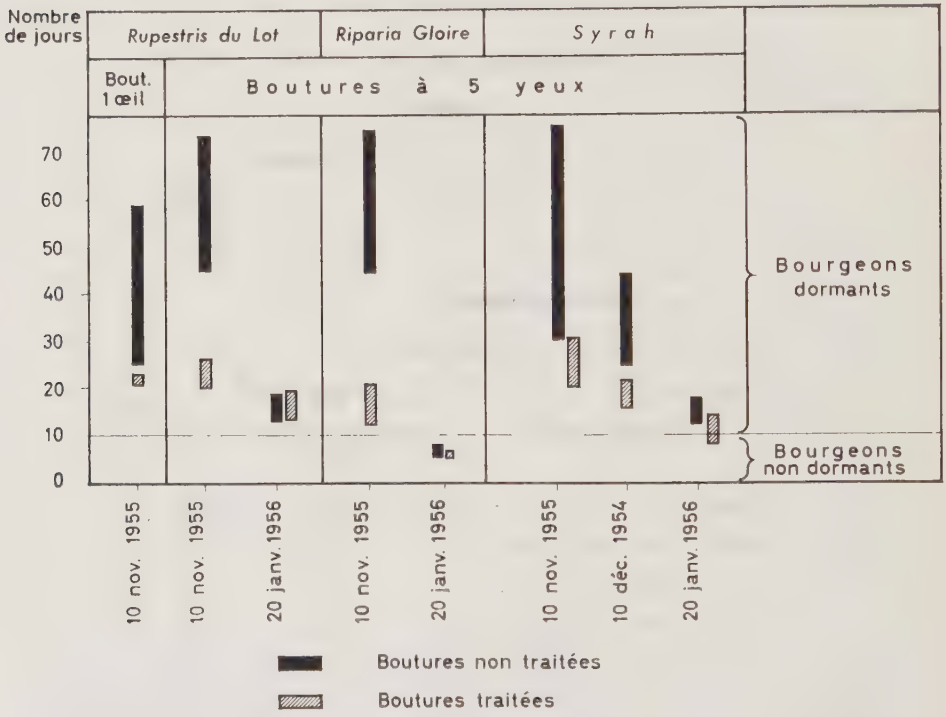


Fig. 5. — *Temps nécessaire au débourrement des bourgeons de boutures à un œil et à 5 yeux, traitées ou non par la rindite (même présentation que fig. 2).*

Un autre traitement à la rindite effectué plus tardivement (20 janvier) s'est montré légèrement positif pour *Syrah,* pratiquement sans action pour *Riparia Gloire* et faiblement retardateur chez *Rupestris du Lot.*

Les résultats obtenus (1955 c) ont été confirmés par d'autres auteurs (voir page 20) (1). Certains ont assimilé l'effet de la rindite à une véritable levée de dormance. Cette interprétation me semble difficile à soutenir, attendu que les bourgeons traités ont, dans mes expériences comme dans les leurs, débourré après 10 jours.

(1) Ce produit a même été utilisé avec succès sur les bourgeons de hêtre (Thorup, 1957).

On ne peut, dans ces conditions, parler de rupture complète de la dormance, mais seulement de diminution de la période de dormance et d'homogénéisation du débourrement

⁂

En résumé, *au début de la période de végétation*, les bourgeons sont normalement soumis à la contrainte des inhibitions de corrélation. Soustraits à celles-ci, ils entrent en croissance en moins de 10 jours dans les conditions de nos expériences.

Après le début de la maturation des tiges et jusqu'au début d'octobre, deux cas se présentent selon que les boutures portant les bourgeons sont aoûtées ou non. Le débourrement des bourgeons des parties aoûtées exige plus de 10 jours et se produit de façon échelonnée; par contre, dans le cas des portions demeurées herbacées, il survient en moins de 10 jours et se montre homogène. Pendant cette période, il y a donc corrélation positive entre l'aoûtement et l'établissement de la dormance des bourgeons.

Un peu plus tard (fin octobre), des yeux latents de segments prélevés sur les portions restées herbacées des tiges présentent une dormance assez profonde, à l'exception des deux derniers bourgeons.

Au début de la période du repos végétatif proprement dit (novembre à Toulouse), les bourgeons sont toujours dormants. En décembre, la dormance devient généralement moins profonde et certains bourgeons deviennent aptes à entrer rapidement en croissance. Début janvier, la dormance endogène des bourgeons de *Rupestris du Lot* et de *Riparia Gloire* est levée et seules les basses températures empêchent leur éveil : ainsi, leur dormance n'est plus qu'imposée.

Une exposition préalable des boutures au *froid* abrège le temps de séjour en serre nécessaire à l'entrée en activité de leurs bourgeons, sans pour autant modifier sensiblement, dans le cas de nos expériences, l'époque de débourrement propre à chaque variété. La seule action de la température constante de 1°C est insuffisante pour supprimer la dormance des bourgeons.

Un traitement par la rindite effectué à la chute des feuilles ramène à trois semaines la durée de la dormance de tous les bourgeons, au lieu de 4 à 9 semaines. Ceci n'implique pas, cependant, que leur dormance soit alors complètement levée, puisque le seuil adopté ici est dépassé.

Connaissant les réactions des bourgeons de vigne, il reste à étudier le comportement du cambium soustrait à l'action de tels méristèmes primaires.

CHAPITRE III

COMPORTEMENT EN CULTURE ASEPTIQUE DE SEGMENTS DE TIGES DE VIGNE PRELEVES AU COURS DE LA PERIODE DE VEGETATION

Seront données tout d'abord des indications sur les techniques utilisées pour la culture in vitro. *Puis, j'étudierai la formation de cal et l'émission de racines par des segments de diverses variétés de vigne prélevés pendant la période de végétation.*

Les premières cultures aseptiques de fragments de tiges de vigne dépourvus de bourgeons ont été effectuées par Morel (1944), en vue d'étudier le comportement *in vitro* de certains parasites obligatoires de la vigne. Les segments qu'il avait prélevés pendant la croissance des tiges (Morel, 1948) ont proliféré activement, alors que ceux récoltés vers la mi-septembre étaient moins volumineux. Bien plus, cet auteur constata que toute prolifération cessait « lorsque les segments étaient prélevés après la chute des feuilles, entre le début d'octobre et janvier ».

J'ai cherché à vérifier tout d'abord si les possibilités de division du cambium de tiges étaient identiques au cours du cycle végétatif pour toutes les variétés expérimentées. Ceci devait me permettre de savoir, en outre, si l'entrée en repos du cambium des segments prélevés se faisait d'une manière progressive ou au contraire brutale et si, enfin, elle avait lieu pendant ou après la période de végétation.

I. — Exposé sommaire des procédés employés pour la culture *in vitro* des tissus végétaux (1)

Toutes les cultures ont été effectuées dans des tubes en verre Pyrex de 180×32 contenant 30 ml de milieu liquide ou solidifié par 13 g de gélose par litre. Le milieu de base utilisé comme témoin était constitué par la solution minérale de Heller (1953) additionnée de 30 g de glucose par litre. Pour les milieux d'expériences,

(1) Ayant fait appel aux techniques classiques, décrites par Gautheret (1959), je me bornerai à signaler les caractéristiques des matériaux utilisés et les modifications apportées à ses procédés de culture.

diverses substances de croissance variant avec chaque essai, ont été ajoutées au milieu de base. Dans tous les cas, le pH était ajusté à 6, avant le passage des milieux solides à l'autoclave (110°C durant 20 minutes)

Pour la culture en milieu liquide, je me suis inspiré de la technique de Heller (1953) qui consiste à placer les explantats en position horizontale sur un support de papier filtre.

En ce qui concerne la désinfection des organes, j'ai employé, soit la méthode à l'hypochlorite de calcium, décrite en détail par Gautheret (1959), soit la méthode à l'alcool, plus rapide. Après la récolte, les tiges sont soigneusement frottées à l'aide d'un coton imbibé d'alcool, puis trempées dans l'alcool pendant 10 à 15 minutes. On enlève alors les couches externes de l'écorce par épluchage sous papier stérile et on découpe les tiges en segments d'environ 3 cm de longueur.

La position des entre-nœuds sur lesquels sont prélevés les segments est toujours comptée à partir de la base de la tige. Lorsque j'ai utilisé bourgeons et entre-nœuds d'une même tige, j'ai compté comme segment de rang *n*, par exemple, celui prélevé sur l'entre-nœud situé immédiatement en dessous du bourgeon de même rang.

Les segments stériles sont « ensemencés » de façon telle que leur partie normalement distale (foliaire) se trouve dans le milieu et leur partie normalement proximale (radicale) en dehors du milieu. Les cultures ainsi effectuées ont été maintenues à la température constante de 23°C±1, en lumière diffuse, et ceci en général pendant 60 jours.

La détermination du poids de la matière sèche des tissus a été effectuée après dessication sous vide à température ordinaire, en présence de chlorure de calcium anhydre.

Me fondant sur les résultats d'une étude de Heller (1953), j'ai adopté comme nombre minimal d'exemplaires par série, celui de 12 cultures.

II. — Cultures de segments de tiges de vigne prélevés au cours de la période de végétation

A. — CULTURES DANS UN MILIEU DEPOURVU DE SUBSTANCES STIMULANTES

J'ai éprouvé tout d'abord une gamme de divers *Vitis* et plus spécialement des cultivars de vignes américaines et de *V. vinifera* et enfin plusieurs hybrides interspécifiques.

V. Berlandieri PLANCHON.

V. candicans ENGELMANN.

V. Labrusca LINNE cv *Isabelle*.

V. Riparia MICHAUX cv *Riparia Gloire de Montpellier.*

V. Rupestris SCHEELE cv *du Lot.*

V. vinifera LINNE cv *Aramon, Chasselas doré de Moissac, Cinsaut, Dattier de Beyrouth, Jaoumet, Madeleine Céline, Perle de Csaba, Pinot blanc, Syrah.*

3309 COUDERC (*V. Riparia* cv *tomenteux* x *V. Rupestris* cv *Martin*).

161.49 COUDERC (*V. Riparia* x *V. Berlandieri*).

5 BB TELEKI, sélection Kober (*V. Riparia* x *V. Berlandieri*).

57 RICHTER (*V. Berlandieri* cv *Rességuier n° 1* x *V. Rupestris* cv *Martin*).

1020 SEIBEL (*V. Rupestris* x *V. Lincecumii* x *V. vinifera* cv Aramon).

Les réactions de ces variétés ont été sommairement décrites dans des publications antérieures (1955 a et b). Je me limiterai ici à donner le comportement d'un certain nombre d'entre elles, et plus particulièrement de : *Rupestris du Lot, Syrah, Madeleine Céline, Chasselas doré de Moissac. Perle de Csaba, Riparia Gloire* et *V. Berlandieri* cultivés dans le milieu de base sans auxine.

a) Formation de cal

Les tissus néoformés deviennent macroscopiquement apparents après des *temps variables,* selon, en particulier, le moment du prélèvement des fragments. Sur les segments de *Rupestris du Lot,* par exemple, prélevés pendant la croissance en longueur des tiges, le temps nécessaire à l'apparition de cal est constant, quelle que soit la région du prélèvement. Si, au contraire, les explantats sont récoltés début septembre, la prolifération débute plus tard, les segments du tiers inférieur des tiges manifestant le retard le plus important (tableau 7).

TABLEAU 7

Nombre de jours avant le début de la prolifération des explantats de Rupestris du Lot, *selon la date du prélèvement et leur niveau sur la tige.*

Date du prélèvement	Région inférieure des tiges	Région moyenne des tiges
Mai, Juin, Juillet	8	8
Septembre	$\geqslant$ 20	$\geqslant$ 15
Octobre	Pas de prolifération	20

La prolifération varie selon le *niveau du prélèvement* sur la tige. Ainsi que l'avait signalé MOREL (1948), les fragments prélevés

au début de la végétation de la vigne sur des tiges très aqueuses se dessèchent sans proliférer. Ceci mis à part, les segments des entre-nœuds de toutes les vignes expérimentées entre mai et début septembre donnent normalement des cals au cours de leur culture dans le milieu de base sans auxine.

A la fin de la période de végétation (fin septembre et octobre), les variétés présentent des réactions différentes. Tous les segments de *Syrah,* par exemple, donent des cals, tandis que plus de 40 % de ceux de *Rupestris du Lot* cessent d'en former. Chez cette dernière variété, en effet, les segments provenant des deux tiers supérieurs des tiges continuent à proliférer abondamment, dans des proportions variant entre 80 et 100 %. Par contre, 10 % seulement des segments prélevés sur le tiers inférieur des tiges produisent des tissus néoformés constitués d'ailleurs de bourrelets rudimentaires, de quelques milligrammes (tableau 8).

TABLEAU 8

Poids des tissus néoformés par quelques segments de Rupestris du Lot *cultivés dans le milieu de base, en fonction de l'époque et du niveau du prélèvement*

Date du prélèvement	Position de l'entre-nœud	Poids du cal sec (mg)	Poids des racines sèches (mg)	Poids de matière sèche (mg)
10 Juillet 1957	6	54	19	73
	6	59	15	74
	7	79	39	119
	10	36	103	139
	10	44	77	121
	13	11	15	86
10 Septembre 1957	6	0	0	0
	9	7	0	7
	13	0	0	0
	14	0	0	0
	25	49	41	90
	27	47	39	86
4 Octobre 1957	6	0	0	0
	7	0	0	0
	9	0	0	0
	14	0	0	0
	19	77	3	80
	22	69	8	77

Chez *Rupestris du Lot,* cultivé pour la production des « bois de greffage », les tiges naissent de bourgeons du vieux bois (T1) ou de bourgeons situés sur l' « empattement » de tiges (T2). Sur quelques « souches mères », j'ai conservé au moment de la

taille des bases de sarments pourvues de 7 à 8 yeux; ces yeux ont donné naissance au printemps à des tiges (T3) (fig. 6). Des segments de ces diverses tiges ont été cultivés *in vitro*. Les résultats ont montré que les segments prélevés sur les tiges T1, T2 et T3 et cultivés aux mois de mai et juin présentent le même pouvoir de prolifération.

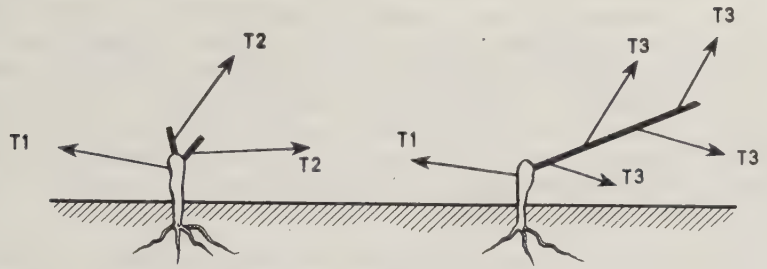


FIG. 6. — *Point d'insertion des tiges de* Rupestris du Lot *utilisées.*

Il existe des différences individuelles très marquées entre les cultures quelle que soit l'époque où elles sont faites. Cependant, le poids moyen du tissu néoformé présente des variations importantes selon le moment du prélèvement. Considérons en effet les poids des tissus apparus sur un nombre constant de cultures présentant dans les séries une croissance optimale (tableau 9).

Ce sont les cultures entreprises en juillet qui ont donné la plus grande quantité de *matière vivante* néoformée (cals plus racines) : celles de *Rupestris du Lot, Syrah* et *Chasselas,* produisent plus de 100 mg de tissu sec, celles de *V. Berlandieri* 23 mg. Au cours de ces déterminations, le *Chasselas* s'est régulièrement classé le premier.

TABLEAU 9

Poids moyen, en mg, des tissus néoformés par des segments de diverses vignes cultivés pendant deux mois dans le milieu de base.

Date du prélèvement	Poids moyen de matière sèche (cal et racines)														
	Syrah			*Chasselas*			*Rupestris du Lot*			*Riparia Gloire*			*Berlandieri*		
	cal	rac.	cal + rac.	cal	rac.	cal + rac.	cal	rac.	cal + rac.	cal	rac.	cal + rac.	cal	rac.	cal + rac.
Mai	45	0	45	68	10	78							15	0	15
Juin	52	8	60				55,7	12,3	68	28	10	38	22	4	26
Juil.	72	39	111	81	48	129	57,1	43,9	101	54	16	50	23	0	23
Sept.	34	0	34	104	0	104	46	40	86	38	0	38	20	0	20
Oct.	36	0	36	0	0	0	71,5	5,5	77	0	0	0			

Envisageons maintenant la *formation de cal :* le poids maximal est obtenu sur des cultures entreprises en juillet pour *Syrah* et *V. Berlandieri,* en septembre pour *Chasselas* et *Riparia Gloire,* en octobre pour *Rupestris du Lot.* Comme pour l'ensemble de la matière vivante, c'est encore la variété *Chasselas* qui, régulièrement, présente les plus gros cals obtenus lors de la période végétative, *Riparia Gloire* et *V. Berliandieri* fournissant les plus faibles.

La *répartition et les caractères morphologiques des cals* apparus sur les segments cultivés dans le milieu de base sont les suivants. La partie normalement distale de l'explantat, plongée dans la gélose, ne présente jamais de cal (planche 4, phot. 1, relative à *Rupestris du Lot*). Sur l'extrémité normalement proximale, un bourrelet apparaît sur l'emplacement de la zone génératrice libéro-ligneuse, grossit et finit par couvrir toute la section, formant ainsi une sorte de calotte.

Chez *Vitis vinifera* variété *Syrah,* la néoformation des tissus se déroule selon le même processus, mais elle présente en outre les quelques caractéristiques suivantes. Pendant la formation du bourrelet, apparaissent parfois de petits massifs cellulaires placés au niveau de la base des faisceaux vasculaires. Le cal formé est souvent partiellement coloré en violet. Cette pigmentation apparaît généralement de 30 à 35 jours après l' « ensemencement » et quelle que soit l'époque du prélèvement. Dans nos expériences, l'apparition de la pigmentation ne peut être attribuée à une carence azotée du milieu. Je rappellerai en effet que Heller (1953), travaillant sur des cultures secondaires de tissus de *Parthenocissus tricuspidata,* a obtenu l'apparition de pigments anthocyaniques à la suite d'une carence azotée. Slabecka-Szweykovska (1952 et 1955) a étudié par ailleurs les conditions de la synthèse de tels pigments chez les tissus de *V. vinifera* cultivés *in vitro.* Contrairement aux cals de *Rupestris du Lot,* ceux de *Syrah* présentent parfois un tissu superficiel poudreux, se dissociant très facilement en cellules isodiamétriques de grande taille. Ces dernières réactions ont souvent été constatées chez les tissus végétaux cultivés en présence de fortes doses d'auxine. Ici, elles se révèlent en l'absence de cette substance.

En résumé, mis à part les entre-nœuds situés près de l'apex, les segments de tous les entre-nœuds de toutes les variétés sont capables de proliférer entre mai et début septembre. Passée cette date, les explantats de la variété *Syrah* conservent cette aptitude alors que ceux de *Rupestris du Lot* la perdent.

J'étudierai maintenant le phénomène de la néoformation des racines, qui, dans certains cas, pourrait expliquer les différences individuelles constatées dans le poids des cals.

b) Formation de racines

Sans vouloir aborder ici les problèmes fondamentaux de la rhizogénèse, je ferai plusieurs observations d'ordre général, rela-

tives à l'apparition de racines sur les explantats de diverses variétés de vigne.

— La formation de racines se montre inconstante.

— Elle s'effectue toujours à partir de la portion proximale du segment, c'est-à-dire celle qui, dans nos conditions d'expérience, émerge du milieu (fig. 7, C);

— Il n'y a pas de lien obligatoire entre le développement d'un cal et celui de racines (fig. 7, D);

— Lorsqu'un segment doit produire un cal et des racines, l'apparition du cal précède toujours celle des racines;

— Il est bien connu que des variétés d'une même espèce ou d'espèces d'un même genre présentent, dans la nature, des aptitudes différentes à la rhizogenèse. Dans le cas de cultures *in vitro* de fragments de tiges appartenant à diverses espèces de vigne, on retrouve de telles différences. J'ai noté, chez *V. Berlandieri*, l'absence totale de racines (1), alors que *Riparia Gloire*, *Rupestris du Lot* et plusieurs variétés de *V. vinifera* en produisent un assez grand nombre. Je n'insisterai ici que sur les cas de *Rupestris du Lot* et de *Syrah* qui ont été les plus étudiés.

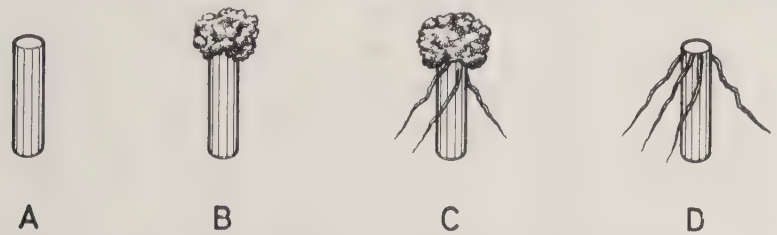


FIG. 7. — *Différents aspects des segments de* Rupestris du Lot *prélevés pendant la période de végétation et cultivés dans le milieu de base : A, sans cal; B, avec cal; C, avec cal et racines; D, avec racines dans cal.*

Le temps qui s'écoule entre l'ensemencement de l'explantat et l'apparition de la première racine peut atteindre 15 à 59 j., suivant en particulier la position de l'explantat sur la tige. Je donnerai à titre indicatif les résultats obtenus au cours d'une expérimentation effectuée en juillet (tableau 10). Des tiges de 25 entre-nœuds ont été choisies; un à plusieurs segments ont été prélevés sur chaque mérithalle et mis en culture dans le milieu de base, selon le protocole habituel. Il ressort du tableau 10 que les entre-nœuds prélevés entre le 11e et le 14e entre-nœud ont formé leurs premières racines dans le temps le plus court (2).

---

(1) On rappellera ici la remarquable inaptitude au bouturage de cette espèce contrairement à celle de *V. riparia* et *V. rupestris*.

(2) RIVALS et ASSAF (1963) viennent de préciser que les segments porteurs des 9e, 10e et 11e nœuds de divers porte-greffes difficiles à bouturer sont doués d'une nette aptitude à émettre rapidement des racines après leur mise en serre. Dans la pratique viticole, on sait que les meilleures boutures sont fournies par la région moyenne des tiges. Selon certains auteurs, leur qualité serait due à leur richesse relative en matières de réserves. A mon avis, l'enracinement précoce de ces boutures suffit à expliquer le pourcentage élevé de reprise.

Chez les variétés expérimentées, j'ai constaté que la quasi-totalité des entre-nœuds d'une tige possèdent la faculté d'émettre des racines au cours de leur culture dans le milieu de base sans auxine. Chez *Rupestris du Lot* et *Syrah,* le pourcentage le plus important de segments pourvus de racines se montre sur les tiges récoltées en juillet. Cette aptitude est réduite en juin et septembre (tableau 11).

TABLEAU 10

Temps nécessaire à l'apparition de racines sur des segments de Rupestris du Lot *prélevés en juillet à différents niveaux des tiges*

Position de l'entre-nœud	Temps de « latence » en jours			
	Tige 1	Tige 2	Tige 3	Tige 4
3	31	28	26	27
4	29	27	29	28
5	32	30	27	29
6	27	26	30	28
7	25	27	25	26
8	30	28	27	27
9	31	29	28	29
10	28	27	27	26
11	18	20	17	16
12	15	17	15	16
14	15	16	16	17
15	22	24	25	26
16	25	26	27	24
17	27	28	25	26
18	25	23	24	25

TABLEAU 11

Fréquence et densité des racines sur des explantats de Rupestris du Lot *prélevés de juin à septembre et cultivés dans le milieu de base*

Date du prélèvement	% d'explantats pourvus de racines	Nombre de racines par explantat		
		max.	min.	moy.
Juin	16	9	1	4,7
Juillet	73	6	1	2,9
Septembre	47	6,3	1	3,3

Quant au géotropisme des racines, il est remarquablement constant (positif) chez *Rupestris du Lot*, tandis que certaines racines de *Syrah* (35 %) possèdent un géotropisme négatif.

Dans une même série de cultures, aussi bien pour *Rupestris du Lot* que pour *Syrah*, le nombre de racines émises par segment prélevé ou non sur un même entre-nœud, varie dans d'importantes proportions (0 à 9).

Le poids de racines le plus élevé est atteint avec des segments prélevés en juillet sur les 10e, 11e et 12e mérithalles; ceci se conçoit étant donné la précocité de l'apparition des racines sur ces segments (voir tableaux 10 et 11).

B. — CULTURES DE SEGMENTS DE TIGES DE VIGNE EN PRESENCE D'AUXINE

Il a été établi plus haut que les segments prélevés sur les parties basales de tiges de *Rupestris du Lot* récoltées en septembre-octobre étaient incapables de proliférer dans le milieu de base. Serait-il possible, à l'aide d'auxine, d'induire la callogenèse de tels explantats ?

Morel (1948) avait constaté que l'acide β-indolyl-acétique (AIA) appliqué à forte dose provoquait sur les tissus de vigne cultivés *in vitro* une action désorganisatrice plus intense que l'acide α-naphtyl-acétique (ANA). J'ai donc utilisé de préférence l'ANA.

Comme les effets généraux des auxines sur les tissus végétaux sont connus, je ne rapporterai ici que les résultats de cette étude me paraissant dignes d'intérêt et concernant plus particulièrement les deux variétés préférées *(Rupestris du Lot* et *Syrah)*.

a) Formation de cal

Entre mai et la mi-septembre, les segments des vignes étudiées, cultivés dans le milieu de base, forment un cal, comme je l'ai montré précédemment. En présence de 0,01 mg/l d'ANA, le volume des tissus néoformés est généralement plus important (fig. 8 B et 9). Aux doses de 0,1 et 1 mg/l, la polarité normale de l'explantat est modifiée : cal et racines apparaissent aux deux extrémités des segments. Avec 1 mg/l d'ANA, c'est d'ailleurs la partie du segment immergée dans le milieu de culture, c'est-à-dire celle normalement distale, qui produit la plus grande partie des tissus anarchiques (fig. 8 D).

La stimulation de la prolifération due à cette auxine de synthèse est importante; les tissus néoformés secs pèsent jusqu'à 200 mg. En outre, l'auxine a pour effet d'avancer légèrement l'apparition du cal (tableau 12).

Entre la mi-septembre et la chute des feuilles, les segments de *Rupestris du Lot,* comme je l'ai montré plus haut, ne forment pas de cal dans le milieu de base s'ils sont prélevés sur la partie

basale des tiges. En présence d'ANA, des tissus néoformés apparaissent après 20 jours lorsque la dose atteint 1 et 10 mg/l (fig. 8, F). Les pourcentages d'explantats avec cal dépassent 90 %. Fait curieux, les tissus néoformés sont alors situés sur la partie aérienne des segments; à cette époque, l'ANA ne perturbe donc plus, comme précédemment, la polarité de ces derniers... Il faut signaler, en outre, qu'avec la plus forte dose, il y a production de cellules géantes sur les couches externes des cals. Appliqué à plus faible dose, l'ANA est inactif (fig. 8, E).

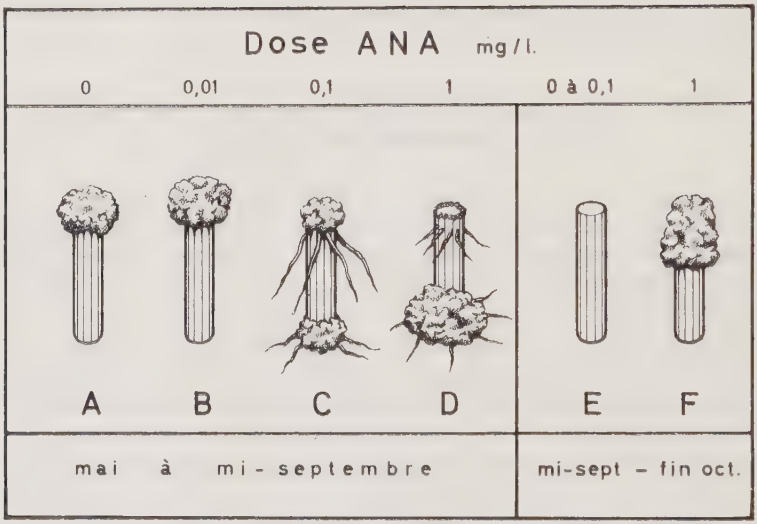


Fig. 8. — *Aspect des cultures de* Rupestris du Lot *en présence de différentes doses d'acide α-naphtyl-acétique, pendant la période de végétation.*

TABLEAU 12

Nombre de jours nécessaire à l'apparition de cal sur des explantats de Rupestris du Lot *cultivés pendant la période de végétation, en présence d'ANA.*

Mois du prélèvement		Doses d'acide α-naphtyl-acétique	
		0	1 mg/1
Juin		8	6
Octobre	expl. herbacé	15	10
	expl. aoûté	0 prolif.	20

b) Formation de racines

En présence d'ANA, l'émission de racines présente les caractères suivants :

— l'auxine ne supprime pas les écarts individuels entre les temps nécessaires à l'apparition de racines sur les cultures;

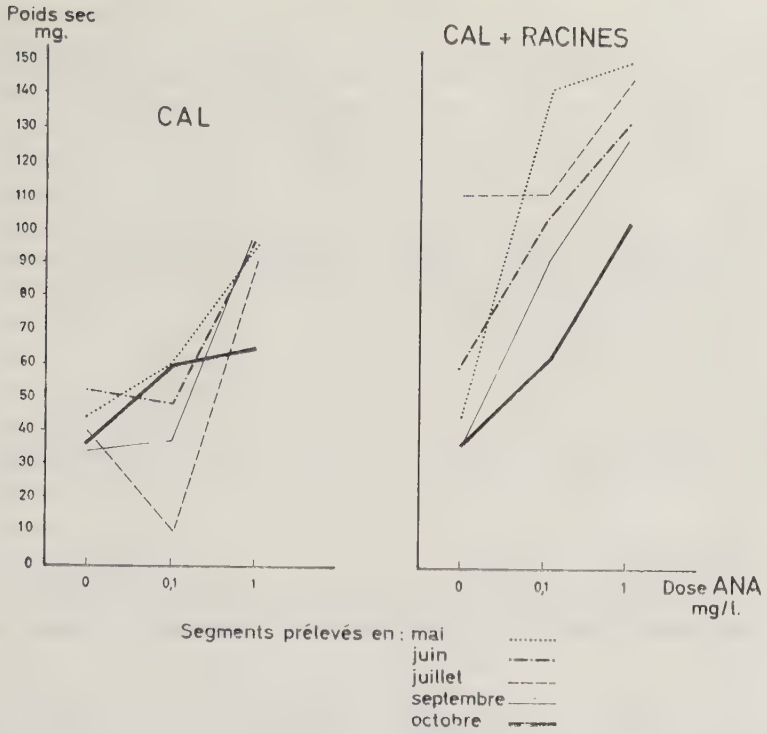


Fig. 9. — *Poids de matière sèche des tissus néoformés par des segments de* Syrah *en présence de différentes doses d'acide α-naphtyl-acétique, pendant la période de végétation.*

— j'ai montré plus haut que, dans le milieu de base, le temps s'écoulant entre ensemencement et formation des racines était variable et dépendait notamment de la position de l'explantat sur la tige. A cet égard, l'apport de l'auxine ne modifie pas les capacités relatives des segments;

— l'ANA ne change pas non plus le géotropisme positif des racines de *Rupestris du Lot,* mais augmente la proportion des racines de *Syrah* à géotropisme négatif. C'est ainsi que plus de 50 % des racines néoformées se dressent vers le sommet du tube, quand les segments sont cultivés dans un milieu contenant 1 mg/l de cette auxine de synthèse, au lieu de 35 % en milieu de base;

— le plus grand nombre moyen de racines (tableau 13) est obtenu en présence de 1 mg/l d'ANA. A cette dose, c'est en juillet que l'on observe le maximum de racines. Dans l'ensemble, *Rupestris du Lot* en présente un plus grand nombre que *Syrah;*

— en présence de 1 mg/l d'ANA, il faut retenir que la rhizogénèse affecte *tous* les explantats mis en culture.

TABLEAU 13

Nombre moyen de racines par explantat de Rupestris du Lot *et de* Syrah *cultivé en présence d'acide α-naphtyl-acétique pendant la période de végétation*

Mois du prélèvement	Doses d'acide α-naphtyl acétique (mg/l)					
	0		0,1		1	
	Rupestris	*Syrah*	*Rupestris*	*Syrah*	*Rupestris*	*Syrah*
Mai	1	2	11	7	25	11
Juin	4,7	2,9	9		29	
Juillet	2,9	3,1	5	5,6	33	29
Septembre	3,3	0	5	3,6	14	14
Octobre	—		—	4,6	21	5,3

***

Au terme de ce chapitre consacré à l'étude du comportement *in vitro* d'explantats de tiges de *Vitis*, prélevés pendant la période de végétation, nous pouvons retenir les réactions fondamentales ci-après :

1° *de début mai à mi-septembre* (fig. 13), à l'exception des 5 à 6 entre-nœuds apicaux, tous les segments des tiges sont capables de proliférer dans le milieu de base. Selon la variété, cependant, la formation de cal varie dans d'importantes proportions. L'auxine (ANA) stimule la formation de cal et la rhizogénèse. Elle supprime en outre la polarité privilégiée des segments.

L'aptitude des segments à la rhizogénèse est très variable selon les cultures; elle dépend de l'espèce et de la variété, de l'époque du prélèvement et de la position de l'explantat sur la tige;

2° *de la mi-septembre à la fin octobre* (fig. 13), les espèces étudiées présentent des comportements qualitativement différents. Dans le milieu de base, tous les segments de tiges de *Syrah* prolifèrent, mais non ceux de *Rupestris du Lot* prélevés dans une région correspondant au tiers inférieur des tiges. L'inaptitude à la division intéresse d'abord le méristème secondaire de la région basale pour gagner ensuite celui de la portion apicale du rameau.

Il en résulte que l'activité de l'apex, avant prélèvement des explantats, n'est pas une condition nécessaire à la prolifération du cambium de segments d'entre-nœuds cultivés *in vitro*.

Lorsque le méristème secondaire des segments prélevés pendant cette période n'est pas en mesure de se diviser dans le milieu de base, l'apport d'acide α-naphtyl-acétique à la dose considérable de 1 mg/l lui confère cette possibilité.

CHAPITRE IV

COMPORTEMENT EN CULTURE ASEPTIQUE DE SEGMENTS DE TIGES DE VIGNE PRELEVES AU COURS DU REPOS VEGETATIF

Etude de la formation de cal et de racines par des segments prélevés au cours du repos végétatif et cultivés dans des milieux simples ou enrichis de diverses substances considérées comme stimulantes. Quelques essais pour éliminer des facteurs défavorables à la prolifération de tels segments ont été ensuite effectués.

I. — Cultures dans un milieu dépourvu de substances stimulantes

A. — RUPESTRIS DU LOT

Des explantats ont été prélevés sur différentes souches, entre 1955 et 1958, sans tenir compte de la position des tiges ni de l'emplacement des entre-nœuds. Dans le milieu de base, 1,4 % seulement des explantats ont montré un début de prolifération caractérisé par de très petits massifs cellulaires localisés surtout à l'emplacement de la zone génératrice libéro-ligneuse (fig. 10, B, C et D). La quasi-totalité des cultures n'a pas proliféré (fig. 10, A et planche 1, phot. 1). Dans cette expérimentation, le nombre des cultures effectuées était supérieur à 400. Les très rares explantats pourvus de tissus néoformés rudimentaires mis à part, on peut dire que pendant la période de repos végétatif, le cambium de *Rupestris du Lot* est incapable de proliférer dans le milieu de base [1].

Je me suis demandé ensuite si le petit nombre de cultures avec tissu néoformé était dû, soit à des potentialités propres des souches utilisées, soit à la position de l'entre-nœud prélevé. Pour répondre à ces questions, une série d'expériences a été effectuée. Malgré le nombre élevé des cas étudiés ici, il n'a pas été possible d'établir une relation entre les réactions exceptionnelles observées et la nature des explantats utilisés.

---

(1) Je reviendrai sur les réactions des explantats observées au cours de l'hiver 1961.

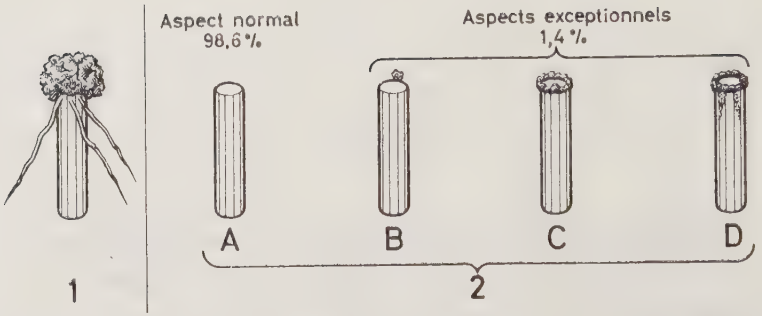


Fig. 10. — *Aspect des segments de* Rupestris du Lot *cultivés pendant deux mois : 1, au cours de la période de végétation;; 2, au cours du repos végétatif.*

B. — SYRAH

Cultivés parallèlement à ceux de *Rupestris du Lot,* des segments de *Syrah* placés dans le milieu de base, donnent au contraire des cals abondants (planche 1, phot. 2).

La prolifération devient visible après des *temps* assez longs (tableau 14). En effet, les tissus néoformés n'apparaissent qu'après 25 jours sur les segments prélevés en novembre. Ce temps de latence décroît ensuite lentement pour des explantats récoltés en décembre et janvier; en février et mars, il est nettement plus faible et se trouve alors réduit de près de moitié, par rapport à ce qu'il était en novembre. Ces résultats montrent clairement, comme on devait s'y attendre, que le cambium ne demeure pas inerte en hiver et se trouve être le siège de phénomènes aboutissant à un raccourcissement de la durée du temps de latence.

TABLEAU 14

Temps nécessaire à l'apparition de cal sur des segments de Syrah *prélevés pendant la période de repos végétatif.*

Date du prélèvement	Nombre de jours nécessaire pour le début de la prolifération
Novembre	25
Décembre	20
Janvier	21
Février	15
Mars	13

A l'encontre des résultats obtenus avec la variété *Rupestris du Lot,* 172 cultures de *Syrah* forment des cals, soit 89,5 % ; il est très probable que les segments représentant les 10,5 % n'ayant pas proliféré aient subi une désinfection trop poussée.

PLANCHE 1

Cultures aseptiques de segments d'entre-nœuds de *Vitis* prélevés au cours du repos végétatif.

1 : *Rupestris du Lot*, dans milieu de base.

2 : *Syrah*, dans milieu de base.

3 : *Syrah*, dans milieu de base + 0,1 mg/l d'acide α-naphtyl-acétique (ANA).

4 : *Syrah*, dans milieu de base + 1 mg/l d'ANA.

Il est curieux de constater que le poids moyen des cals développés sur des segments prélevés en hiver soit le plus souvent supérieur à celui des cals obtenus lorsque le prélèvement a lieu pendant la période de végétation (1). Je dois signaler également que les explantats de *Syrah* cultivés pendant l'hiver n'ont jamais donné de racines, alors que l'aptitude à la rhizogénèse des segments prélevés pendant la période de végétation a été établie plus haut. Pour faciliter la comparaison, j'ai réuni les données concernant le comportement des explantats récoltés au cours de l'année (tableau 15).

TABLEAU 15

Poids, en mg, des tissus néoformés par des explantats de Syrah *prélevés tout le long de l'année et cultivés dans le milieu de base.*

Date du prélèvement	Poids moyen des tissus néoformés secs		
	cal	racines	cal + racines
Mai	45	0	45
Juin	52	8	60
Juillet	72	39	111
Septembre	34	0	34
Octobre	36	0	36
Novembre	61	0	61
Décembre	69	0	69
Janvier	56	0	56
Février	58	0	58
Mars	70	0	70

C. — AUTRES VARIETES

Parmi les autres variétés prélevées au cours du repos végétatif, *Chasselas de Moissac* est incapable de proliférer *in vitro* et présente donc dans le milieu de base les mêmes réactions que *Rupestris du Lot*.

Par contre, d'autres espèces et variétés se comportent comme *Syrah* et se montrent aptes à former des cals pendant cette période; ce sont *V. Berlandieri*, *V. vinifera*, var. *Madeleine Céline* et *Perle de Csaba*. Il faut ajouter que, selon l'espèce, la production de cal est plus ou moins élevée : les segments de *V. Berlandieri* forment peu de cal, tandis que de très abondants tissus appa-

(1) Sussex et Clutter (1959) ont constaté que des fragments de phloème de lilas et d'autres espèces prolifèrent plus activement *in vitro* lorsqu'ils sont prélevés au moment du départ des bourgeons.

raissent sur ceux de *Madeleine Céline* (1) et *Perle de Csaba* (2) (tableau 16).

D'autre part, les explantats de ces variétés, comme il a été indiqué précédemment pour *Syrah*, n'ont pas donné de racines.

TABLEAU 16

Poids, en mg, des tissus néoformés secs par des explantats de quelques variétés, prélevés pendant le repos végétatif et cultivés dans le milieu de base.

Date du prélèvement	*V. Berlandieri*	*Madeleine Céline*	*Perle de Csaba*
Novembre	31	65	79
Décembre	33	68	83
Janvier	28	63	80
Février	30	74	89

On voit donc qu'à la différence des segments de *Rupestris du Lot...*, ceux de *Syrah, V. Berlandieri...* sont capables de proliférer lorsqu'ils sont prélevés durant la période de repos végétatif.

II. — Cultures en présence de substances stimulantes

En vue de provoquer la prolifération des tissus de vignes restant inertes en hiver, j'ai ajouté au milieu de base, un certain nombre de composés.

A. — AUXINES DE SYNTHESE

De 1955 à 1959, j'ai effectué des ensemencements de novembre à mars dans des milieux de base contenant des doses de 0,01, 0,1, 1 et 100 mg/l d'ANA ou d'AIA.

Les résultats obtenus avec *Rupestris du Lot* présentent une telle homogénéité que je n'ai pas cru bon d'en dresser un tableau; ils sont les suivants :

— pratiquement, aucun explantat n'a produit de cal en présence des doses de 0,01 à 1 mg/l. Parmi un nombre considérable

(1) Il est intéressant de noter que, la variété *Madeleine Céline* étant utilisée comme greffon, un volumineux tissu de soudure apparaît au niveau de la greffe.

(2) Au cours du repos végétatif, il arrive parfois que les cals de tels segments cultivés dans le milieu de base comprennent des portions de tissus translucides.

de segments, un seul — sur plusieurs centaines —, mis en culture au mois de mars, a donné naissance en présence de 1 mg/l d'ANA à un cal rudimentaire. Les tissus formés ne couvraient qu'une moitié environ de la face normalement proximale du segment;

— avec 100 mg/l, tous les segments ont fourni latéralement des amas de tissus translucides ou poudreux, formés de cellules géantes et isodiamétriques. Il s'agit là de tissus anormaux tout à fait différents de ceux produits par les explantats, cultivés au cours de la période végétative dans le milieu de base, ou en présence de faibles doses d'auxine.

Les segments de *Chasselas de Moissac,* comme ceux de *Rupestris du Lot,* ne prolifèrent pas pendant le repos de la vigne quand ils sont cultivés dans le milieu de base; mais à la différence de cette dernière variété, ils sont sensibles aux auxines. En effet, dès que la dose d'ANA atteint 0,01 mg/l, les explantats donnent des cals d'environ 50 mg de matière sèche; en présence de 0,1 et 1 mg/l, les tissus néoformés sont encore plus importants et des racines apparaissent. Eiffert et coll. (1962) ont constaté également que des segments de *Vitis* (espèce non précisée) produisent des cals en présence d'AIA ou de ses précurseurs.

Quoique les explantats de *Syrah* prolifèrent dans le milieu de base pendant les mois de novembre à mars, il m'a paru utile d'étudier leur comportement en présence d'auxine.

La figure 11 donne les poids de matière sèche formée *in vitro* par les segments de *Syrah* récoltés à différents moments du repos végétatif. Au cours des prélèvements effectués à une même date, les doses de 0,1 et 1 mg/l d'ANA se sont montrées plus actives que celle de 0,01 mg/l pour la production de tissus néoformés (cal + racines). Les poids secs obtenus varient selon l'époque du prélèvement; ainsi, en novembre, l'auxine, à toutes les doses utilisées est faiblement active; elle devient plus efficace au cours des mois de décembre, janvier et mars (fig. 11).

Pour la seule *production de cal,* la dose la plus favorable est 0,1 mg/l (fig. 11 et planche 1, photo 3). D'une manière générale, les cals fournis par les segments prélevés juste avant l'entrée en croissance sont plus volumineux que ceux provenant d'explantats récoltés au début du repos végétatif. Aux très fortes doses, 10 mg et 100 mg/l d'ANA, la polarité privilégiée est supprimée et des tissus anormaux apparaissent, mous, poudreux et parfois même translucides.

Il a été établi que, pour cette variété cultivée dans le milieu de base, le temps nécessaire à l'apparition des tissus néoformés diminuait au fur et à mesure que les ensemencements étaient plus proches du printemps. J'ai recherché si l'addition d'auxine pouvait modifier ces temps de latence. Le tableau 17 résume les résultats obtenus sur plus de 400 cultures effectuées en présence d'auxine. En novembre, l'addition de 0,01 et 0,1 mg/l d'ANA au milieu de culture ne diminue pas le temps de 22 jours exigé pour

l'apparition des cals, mais, en présence de 1 mg/l, ce dernier est ramené à 13 jours. Pendant les mois de décembre et janvier, toutes les doses d'auxine utilisées abrègent le temps de latence d'une valeur sensiblement égale à 5 jours. L'apport d'auxine est, à cet égard, pratiquement inefficace sur les cultures effectuées pendant les mois de février et mars.

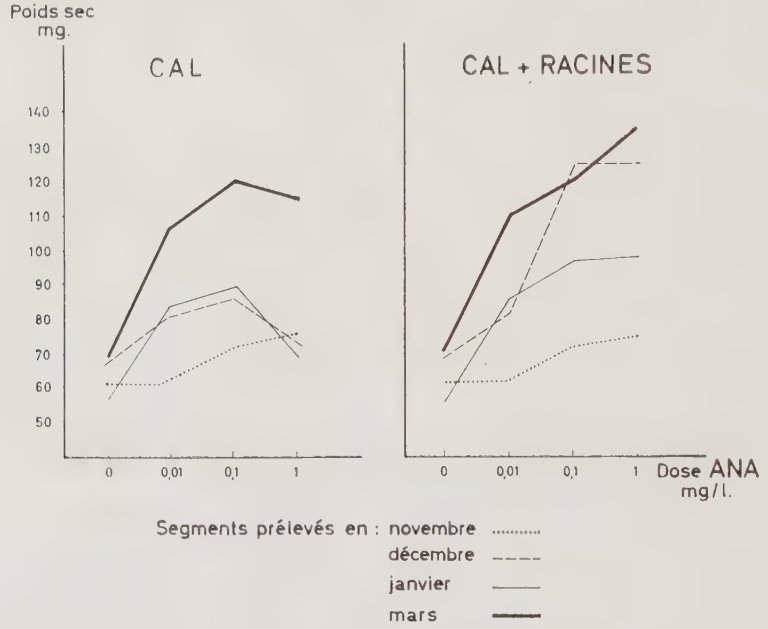


FIG. 11. — *Poids de matière sèche, des tissus néoformés par des segments de* Syrah *cultivés pendant le repos végétatif, en présence de doses variées d'acide α-naphtyl-acétique.*

TABLEAU 17

Nombre de jours nécessaire pour le début de la prolifération de segments de Syrah *prélevés au cours du repos végétatif et cultivés dans des milieux enrichis en ANA.*

Mois du prélèvement	Témoin sans ANA	Doses d'acide α-naphtyl-acétique (mg/l)		
		0,01	0,1	1
Novembre	22	25	24	13
Décembre	20	16	15	15
Janvier	21	15	15	15
Février	15	14	12	12
Mars	13	12	12	12

En ce qui concerne la *rhizogénèse*, les réactions des segments de *Syrah* à l'auxine varient également selon les époques du prélèvement. En novembre, aucune racine n'apparaît aux doses de 0,01 à 1 mg/l; il faut ajouter la dose considérable de 10 mg/l pour obtenir leur émission. Pendant les mois de décembre à mars, l'auxine agit sur la rhizogénèse à des doses beaucoup plus faibles (0,1 et 1 mg/l).

— Le pourcentage d'explantats pourvus de racines est en moyenne de 54, pour la dose de 0,1 mg/l; il atteint 98 en présence de 1 mg/l; dans ce dernier cas, la rhizogénèse est donc pratiquement générale.

— Le plus grand nombre de racines par explantat est obtenu avec la dose de 1 mg/l d'ANA (planche 3, phot. 3) et ce nombre varie selon l'époque du prélèvement : 10,7 racines en moyenne pour des segments récoltés en décembre, 15 en mars...

— Le géotropisme de 60 % environ des racines formées en présence de toutes les doses d'ANA est inversé (planche 1, phot. 4).

Le comportement de *V. Berlandieri* est assez voisin de celui de *Syrah*. Ses segments présentent des cals s'ils sont cultivés dans un milieu sans auxine et ils réagissent également à l'ANA, aux doses de 0,1 et 1 mg/l. A cette dernière concentration, en particulier, il y a formation de cal et de racines. L'émission de celles-ci est à souligner car cette espèce, d'un grand intérêt en viticulture, ne peut pratiquement être multipliée en raison de sa très mauvaise aptitude au bouturage. Notons ici au passage que, dans les conditions naturelles, l'action de l'auxine sur l'enracinement de boutures de cette espèce s'est révélée très capricieuse au cours des essais en plein champ.

B. — VITAMINES, KINETINE ET PRODUITS DE COMPOSITION NON DEFINIE

Bien que l'action des vitamines sur le développement de tissus végétaux ne soit pas stimulante dans tous les cas (1), j'ai tenu à en expérimenter quelques-unes en vue de voir leur effet sur la prolifération hivernale de segments de *Rupestris du Lot*. Voici la liste des vitamines étudiées et les doses utilisées dans ces essais : B 1 (3 mg/l), B 2 (1 mg/l), B 6 (1 mg/l), B 12 (1 et 0,01 mg/l), biotine (1 mg/l), acide nicotinique (2 mg/l), inositol (2 mg/l), pantothénate de calcium (1 mg/l), B 1 + biotine + B 6 + B 2 + inositol. Tous ces essais se sont montrés vains.

---

(1) Parmi les vitamines pourvues d'une action accélératrice sur la croissance de tissus végétaux cultivés *in vitro*, il faut citer : la vitamine B 1 (Paris, 1955), la cobalamine ou vitamine B 12 (Reinert et White, 1956), la pyridoxine ou vitamine B 6 (Hildebrandt, Riker et Duggar, 1946), le méso-inositol (Jacquiot, 1951 b, Paris 1955), la biotine (Morel, 1948, Reinert et White, 1956) et l'acide pantothénique (Morel, 1946).

J'ai étudié aussi l'action de la kinétine, substance de « division cellulaire » en présence d'AIA. Employée seule à raison de 4 mg/l, cette substance n'a montré également aucune action; en combinaison avec 1 mg/l d'AIA, elle est restée inefficace, sauf si les segments étaient prélevés en mars; 20 % d'entre eux ont alors formé des cals (1). Les tissus néoformés se trouvaient situés sur l'extrémité proximale et sur la région du segment proche du niveau du milieu (fig. 12, B).

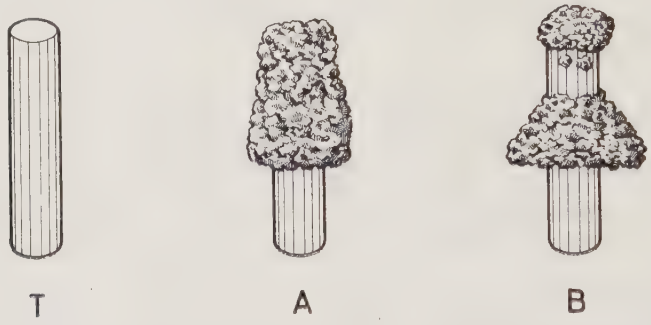


FIG. 12. — *Aspect des segments de* Rupestris du Lot *prélevés en mars et cultivés dans le milieu de base témoin (T), en présence de* 15 % *de lait de coco (A), de kinétine et d'acide* β*-indolyl-acétique (B).*

Les résultats précédents, presque entièrement négatifs, m'ont incité à utiliser des produits de composition complexe tels que l'extrait de levure, l'hydrolysat de caséine et le lait de coco.

L'extrait de levure Difco, comme indiqué par STRAUS et LARUE (1954) a été ajouté à la dose de 0,590 g/l. L'hydrolysat de caséine Difco a été employé, soit en présence de nitrate (0,430 g/l de nitrate de sodium), soit comme seule source d'azote. Dans le premier cas, la quantité d'hydrolysat était de 0,280 g; dans le deuxième, 0,988 g. Le lait de coco provenant de noix immatures a été incorporé au milieu de base à raison de 15 à 30 %.

Les deux premiers composés se sont montrés sans action sur la prolifération des fragments de tiges de *Rupestris du Lot* prélevés durant le repos végétatif.

En présence de lait de coco, les explantats ensemencés d'octobre à février sont restés inertes. Mais, parmi les segments récoltés en mars, 20 % ont proliféré. Apparu après 20 jours, le cal est devenu ensuite volumineux, couvrant généralement toute la portion de l'explantat située en dehors du milieu (fig. 12, A). Dans les expériences de DUHAMET (1950), le lait de coco n'avait jamais provoqué de rhizogénèse sur les explantats primitifs de *Parthenocissus tricuspidata*. Dans le cas de mes expériences, les cultures de *Rupestris du Lot* entreprises en mars présentaient en

(1) J'ai signalé un seul cas de prolifération sur un segment prélevé en mars et cultivé en présence de 1 mg/l d'ANA.

moyenne deux racines, de longueur inférieure à 2 cm, et remarquables par leur aspect effilé (diamètre moyen 0,4 mm) (1).

L'action du lait de coco a été étudiée chez d'autres variétés :

— *Riparia Gloire* se montre aussi insensible à ce produit que *Rupestris du Lot;*

— la prolifération de *Syrah* est par contre considérablement augmentée puisque les cals obtenus passent de 56-70 mg à 150-200 mg;

— chez *V. Berlandieri,* il y a aussi stimulation, les poids des cals formés passant de 30-33 à 80-85 mg;

— les explantats de *Chasselas de Moissac,* qui ne prolifèrent pas dans le milieu de base pendant l'hiver, forment en présence de lait de coco de très gros cals, plus importants encore que ceux obtenus à l'aide d'ANA.

On vient de voir que l'addition au milieu de diverses substances considérées comme inductrices ou stimulantes de la division cellulaire ne m'a pas permis d'obtenir la prolifération généralisée des segments de *Rupestris du Lot* prélevés durant l'hiver. Il y avait alors lieu d'être fixé sur l'action éventuellement défavorable des tanins et oxydants sur la prolifération hivernale de *Rupestris du Lot.* J'ai donc commencé par reprendre l'expérimentation de Jacquiot (1947) (2). La transplantation des explantats de *Rupestris du Lot,* avec ou sans apport de caféine, n'a pas donné de résultat positif. Par ailleurs, contrairement aux résultats de Reinert et White (1956) chez les Conifères, dont les tissus sont riches en tanins et oxydases, l'addition de tyrosine, de vitamines et d'acides aminés est également sans action sur la vigne.

Dans la mesure où la technique et les produits utilisés élimiment l'action des tanins ou ralentissent celle de certaines oxydases, il n'est pas possible de rétablir ainsi l'activité du cambium de *Rupestris du Lot.*

*
**

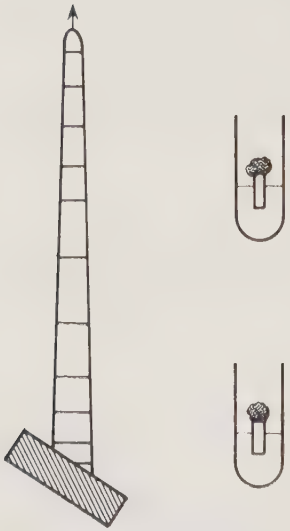
Si, pendant la période de végétation active, les vignes étudiées présentent *in vitro* le même comportement, leurs réactions au cours du repos végétatif sont tout à fait différentes; elles permettent d'ailleurs de classer les espèces et variétés en deux groupes, dont chacun peut être représenté par une variété caractéristique (voir fig. 13).

---

(1) Des explantats de *Rupestris du Lot* ont été cultivés en présence de lait de coco à une époque favorable à l'émission de racines (juillet). Cette fois encore, le nombre de racines apparues fut plus grand que sur les segments cultivés dans le milieu de base (3,5 au lieu de 2,9) et leur diamètre moyen toujours plus petit (0,6 mm au lieu de 0,9 mm).

(2) Pour obtenir des tissus néoformés de chêne et de châtaignier, cet auteur a été contraint d'éliminer partiellement les tanins contenus dans les fragments des tiges mis en culture.

I - De mai à mi-septembre (pour toutes les variétés étudiées)

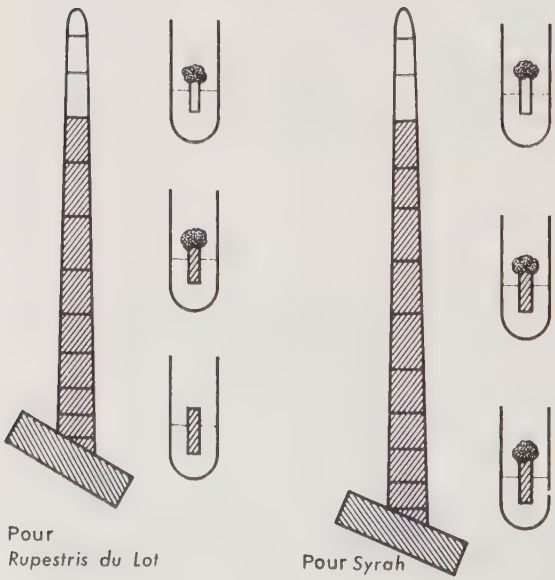


Temps moyen nécessaire au début de la prolifération : 8 j.

Poids sec moyen du cal formé par les segments des variétés :

Chasselas	68 - 104 mg
Rupestris du Lot	46 - 71
Syrah	34 - 72
Riparia Gloire	28 - 38
Berlandieri	15 - 23

II - De mi-septembre à fin octobre



Capacité de prolifération le long de la tige :

— *Rupestris du Lot* : limitée aux 2/3 supérieurs

— *Syrah* : généralisée

Temps moyen nécessaire au début de la prolifération, pour les deux espèces : 15-20 j.

Pour légende, voir page suivante.

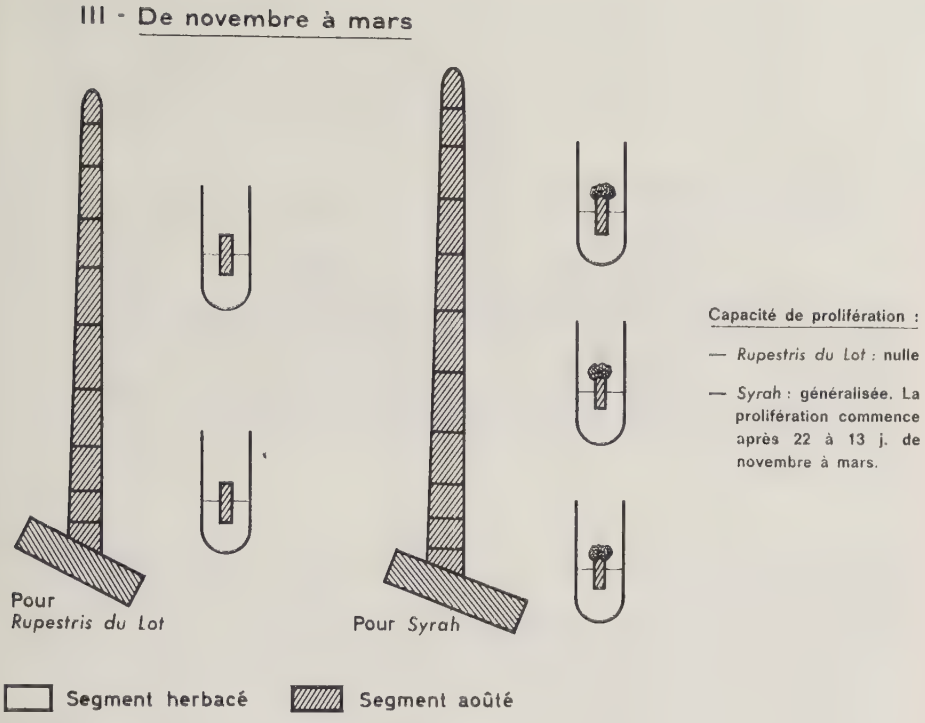


FIG. 13. — *Formation de cal sur des segments de* Rupestris du Lot *et de* Syrah *prélevés au cours d'un cycle végétatif et cultivés dans le milieu de base sans auxine.*

a) Groupe *Rupestris du Lot (Riparia Gloire, Chasselas de Moissac) :* les explantats ne prolifèrent pas durant la période de repos végétatif et la callogénèse montre un caractère saisonnier très marqué.

b) Groupe *Syrah (Perle de Csaba, Madeleine Céline* et *V. Berlandieri*) : les explantats forment des cals tout le long de l'année.

Dans le but de provoquer la formation de cal sur les segments restant inertes lorsqu'ils sont prélevés en hiver, de nombreuses substances ont été utilisées.

L'*acide α-naphtyl-acétique* appliqué à des doses allant de 0,01 à 1 mg/l :

— ne permet pas la prolifération des segments de *Rupestris du Lot;*

— induit la callogénèse d'explantats de *Chasselas de Moissac;*

— stimule *Syrah* et *V. Berlandieri.* L'importance de cette stimulation varie selon la variété et l'époque du prélèvement. Il faut ajouter également que la réponse des segments de *Syrah* à l'action rhizogène de l'auxine change durant le repos végétatif.

Des *vitamines*, l'*extrait de levure* et l'*hydrolysat de caséine* sont incapables de provoquer la prolifération de segments d'entre-nœuds de *Rupestris du Lot* prélevés en hiver. La *kinétine* et le *lait de noix de coco immatures* sont généralement inefficaces sauf lors de prélèvements des explantats effectués peu avant le débourrement.

Sur les explantats de *Chasselas de Moissac*, par contre, le lait de coco provoque une intense prolifération qui ne peut être imputée à l'AIA qu'il contient.

Devant l'insuccès presque total de l'addition de « substances de croissance » au milieu, quelques tentatives ont été effectuées *pour éliminer des facteurs supposés défavorables à la callogénèse.* Mais, ni la « suppression » de l'action des tanins, ni le « ralentissement » de celle des oxydases, n'ont permis l'obtention de la prolifération généralisée des segments de *Rupestris du Lot.*

CHAPITRE V

RELATIONS ENTRE L'ACTIVITE DU MERISTEME PRIMAIRE ET CELLE DU MERISTEME SECONDAIRE

Après avoir étudié séparément le comportement des bourgeons et celui du cambium de tige de vigne, j'envisage les liens susceptibles d'exister entre les méristèmes primaire (apical ou axillaire) et secondaire.

Nous venons de constater que, pendant la période de végétation active, les segments de toutes les vignes étudiées dépourvus de bourgeons forment des cals *in vitro*. Ceci implique qu'ils possèdent le pouvoir de se diviser lorsqu'ils reçoivent des sels minéraux et du glucose. Par contre, dans le même milieu les segments d'un certain nombre de variétés sont incapables de proliférer lorsqu'ils sont prélevés au cours du repos végétatif de la vigne. Etant donné le comportement de ces deux catégories d'explantats de vigne, ces derniers m'ont paru convenir pour approfondir les relations possibles entre l'activité du méristème primaire et celle du méristème secondaire.

Pour beaucoup d'auteurs, l'activité du cambium dépendrait de celle des bourgeons et son inertie ne serait que la conséquence de leur repos. Telle fut également mon opinion en étudiant *Rupestris du Lot*. Un élément nouveau est apparu lorsque j'ai constaté que chez les variétés *Syrah*, *Madeleine Céline* et *Perle de Csaba*, il y a développement de cal en hiver sur des segments de tiges dépourvus de bourgeons. On doit donc admettre que l'activité du méristème primaire et la capacité de prolifération *in vitro* du méristème secondaire ne sont pas nécessairement liées.

Ces derniers faits m'ont incité à reprendre l'étude de *Rupestris du Lot* en vue d'établir ou non une relation constante entre les activités du bourgeon et du cambium.

A cet effet, j'ai tout d'abord pensé qu'une preuve de la dépendance bourgeon-cambium pouvait être fournie par la culture stérile de segments pourvus de bourgeons capables de croître.

I. — Action, sur la prolifération du méristème secondaire, du bourgeon en croissance conservé sur le segment

Quelques auteurs ont étudié l'action de bourgeons sur certains phénomènes de la croissance des végétaux. Dès 1925, Van der Lek

avait prouvé que les bourgeons en développement de boutures cultivées en terrines amélioraient l'enracinement. Camus (1949) a réalisé *in vitro* le greffage de bourgeons d'endive sur des tissus de racines de cette espèce (voir page 22). Wetmore et Sorokin (1955) ont montré à leur tour que des bourgeons de lilas, greffés sur des cultures de tissus de la même espèce, induisaient en leur sein la différenciation de faisceaux vasculaires. Nysterakis (1954 b) a étudié le rôle, sur la rhizogénèse, des propres bourgeons des segments de tiges d'*Aucuba* non épluchés et cultivés aseptiquement, respectant ainsi l'intégrité des tissus et l'interdépendance naturelle des organes. Il a montré que le bourgeon en croissance détermine l'apparition de racines sur le segment qui le porte et, ceci, au même titre que l'auxine appliquée à un segment dépourvu de bourgeon.

J'ai alors étudié l'action des méristèmes primaires axillaires sur le cambium de vigne, en conservant aux segments leurs propres bourgeons. Chaque essai comprenait les segments prélevés à la chute des feuilles tout le long d'un tige et constitués du nœud accompagné des portions adjacentes d'entre-nœud. La moitié de ces segments, ceux de la série paire par exemple, étaient pourvus d'un bourgeon; l'autre moitié, ceux de la série impaire considérés comme témoins, avaient subi l'ablation complète de l'œil à sa base (1). Une double série parallèle comprenait en outre des segments pourvus de bourgeons, provenant de boutures soumises à l'action de la rindite selon la technique exposée page 33.

Dans ces conditions, les résultats suivants ont été obtenus. En l'absence de bourgeon, aucune prolifération ne s'est produite. Lorsque celui-ci a été au contraire conservé, il a augmenté de volume pendant 10 à 15 jours et a donné des pousses, qu'il y ait eu ou non traitement préalable à la rindite (2). Après 25 à 35 jours de culture, le cambium des segments a formé des cals volumineux (planche 2, phot. 1 et 2 et fig. 14, A). On doit ainsi conclure que le bourgeon en croissance apporte au cambium au repos un facteur indispensable à son entrée en division.

Le résultat des cultures de segments pourvus de bourgeon est donc en accord avec la théorie de la dépendance bourgeon-cambium.

J'ai pu établir cependant que cette dernière n'est pas vérifiée dans tous les cas et ne peut ainsi être considérée comme ayant une portée générale, même chez les variétés du groupe *Rupestris du Lot*.

---

(1) La désinfection de ce matériel est très délicate car le bourgeon est entouré d'écailles séparées par des poils. Après un trempage dans l'alcool suivi d'un flambage, j'ai éliminé stérilement le maximum d'écailles externes; le segment a été ensuite « épluché » comme d'ordinaire et placé dans le tube, la face normalement distale étant toujours immergée.

(2) Je dois dire à ce propos que j'ai été surpris, au cours de ces expériences, d'observer que les bourgeons de boutures traitées à la rindite et ceux de boutures non traitées débourraient *in vitro* de manière synchrone.

PLANCHE 2

Cultures aseptiques, dans le milieu de base, de segments de *Rupestris du Lot* prélevés au cours du repos végétatif.

1 : segment sans bourgeon, n'ayant pas proliféré.

2 : segment ayant proliféré après développement de ses bourgeons axillaires.

Les preuves expérimentales ont été établies cette fois en considérant les relations entre la croissance *in vitro* et celle du méristème apical ou des méristèmes axillaires, en plein champ ou en serre.

II. — Comparaison de l'activité du méristème primaire, dans la nature, et de celle du méristème secondaire, *in vitro*

Après l'expérimentation précédente, on pouvait s'attendre à voir proliférer les segments d'entre-nœuds de *Rupestris du Lot* prélevés sur des sarments formés l'année précédente et pourvus de rameaux de l'année en croissance. Pour vérifier cette hypothèse, des sarments de 10 yeux ont été laissés en place sur les souches, au cours de la taille d'hiver. En mai, alors que les rameaux herbacés étaient en plein développement (30 à 40 cm), des segments d'entre-nœuds ont été prélevés sur les sarments et cultivés dans le milieu de base. Comme prévu, de tels segments de *Rupestris du Lot* et de toutes autres variétés ont produit également des cals abondants (fig. 14 B et 15).

D'autres essais ont eu pour but de rechercher si, à l'arrière-saison, l'arrêt de l'activité de tous les méristèmes primaires d'une tige entraînait obligatoirement l'inertie *in vitro* du cambium de segments d'entre-nœuds prélevés sur cette même tige. Début septembre, la croissance des méristèmes terminaux du rameau et des anticipés étant bien ralentie, tous les segments récoltés sur le rameau ont encore proliféré normalement *in vitro* (chap. 3). Par contre, début octobre, lorsque les méristèmes primaires des tiges ont cessé toute activité, les segments d'entre-nœuds prélevés à différents niveaux des tiges et cultivés *in vitro* réagissent inégalement. Ceux prélevés sur les deux tiers supérieurs forment encore des cals, ceux du tiers inférieur n'en donnent pas (chap. 3 et fig. 14 D et 15).

On peut conclure que toute activité des méristèmes primaires ayant cessé dans la nature, le méristème secondaire des segments de *Rupestris du Lot* est capable, *in vitro*, de proliférer ou non. Ceci implique qu'une dépendance directe entre l'activité du méristème primaire et celle du méristème secondaire ne peut être retenue comme explication générale du fonctionnement du cambium de certaines vignes.

III. — Activité du méristème primaire de boutures mises en terrines et activité du méristème secondaire d'entre-nœuds cultivés *in vitro*

Cette étude m'a été suggérée par le fait qu'en automne, l'entrée en dormance des bourgeons et l'incapacité du cambium à proli-

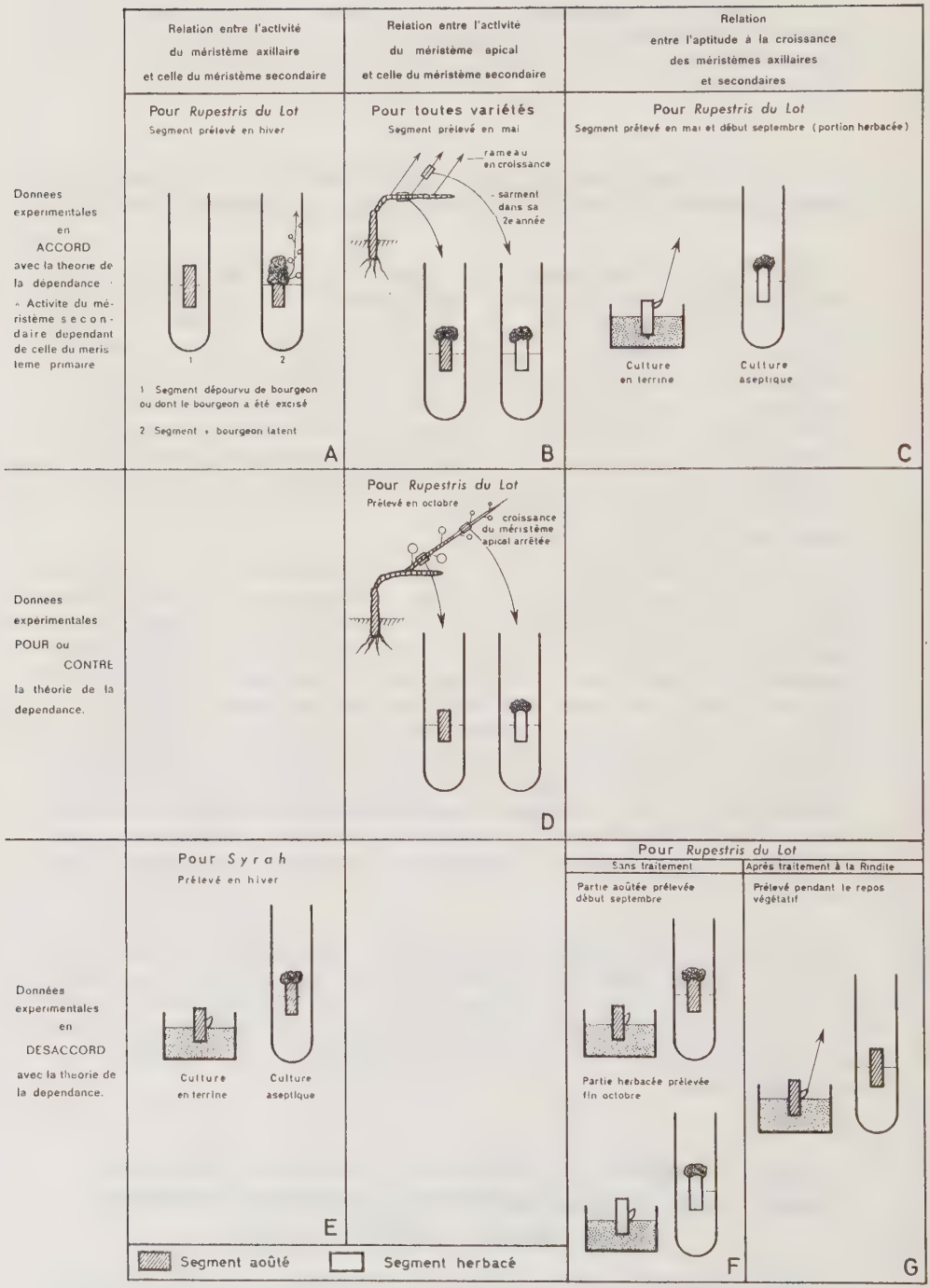
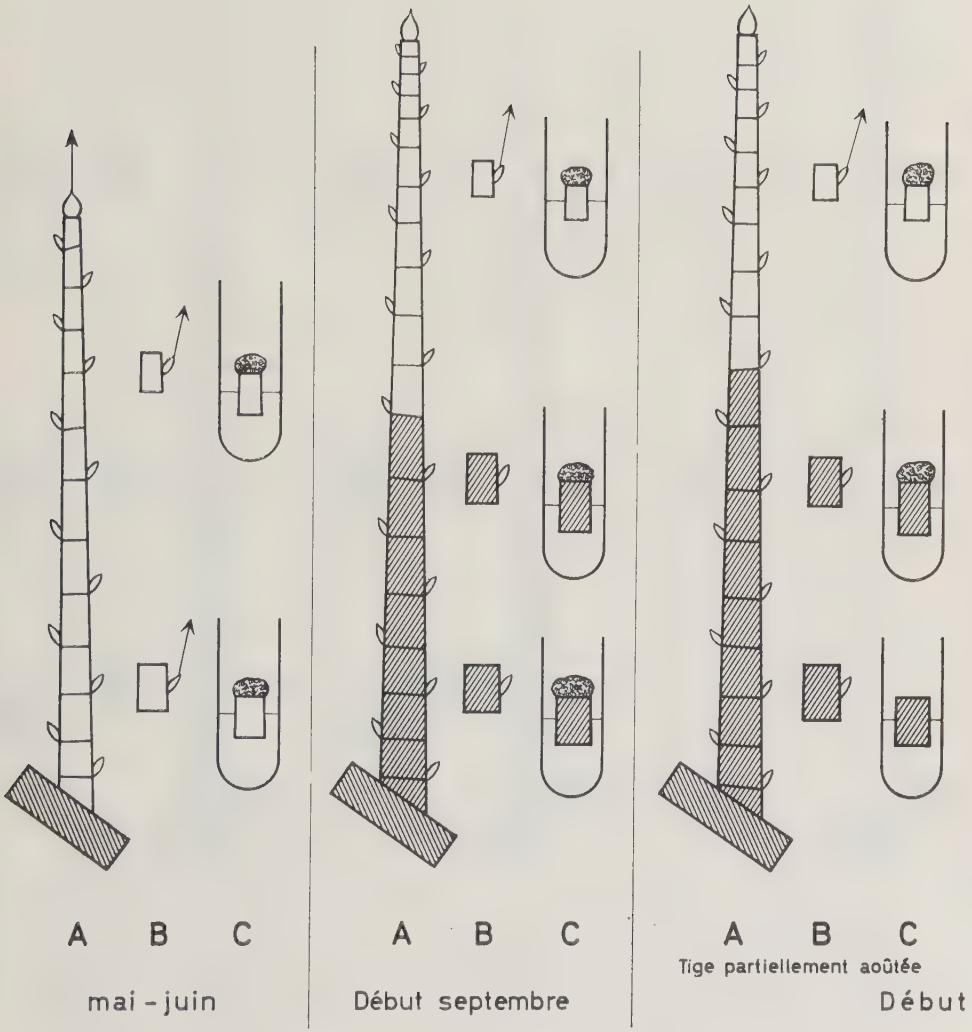


FIG. 14. — *Relations entre activité et aptitudes de méristèmes primaires et secondaires de la vigne.*



Segment herbacé Segment "aoûté"

A Tige non détachée

B Segment avec bourgeon, mis en serre chaude

C Culture aseptique d'entre-nœud

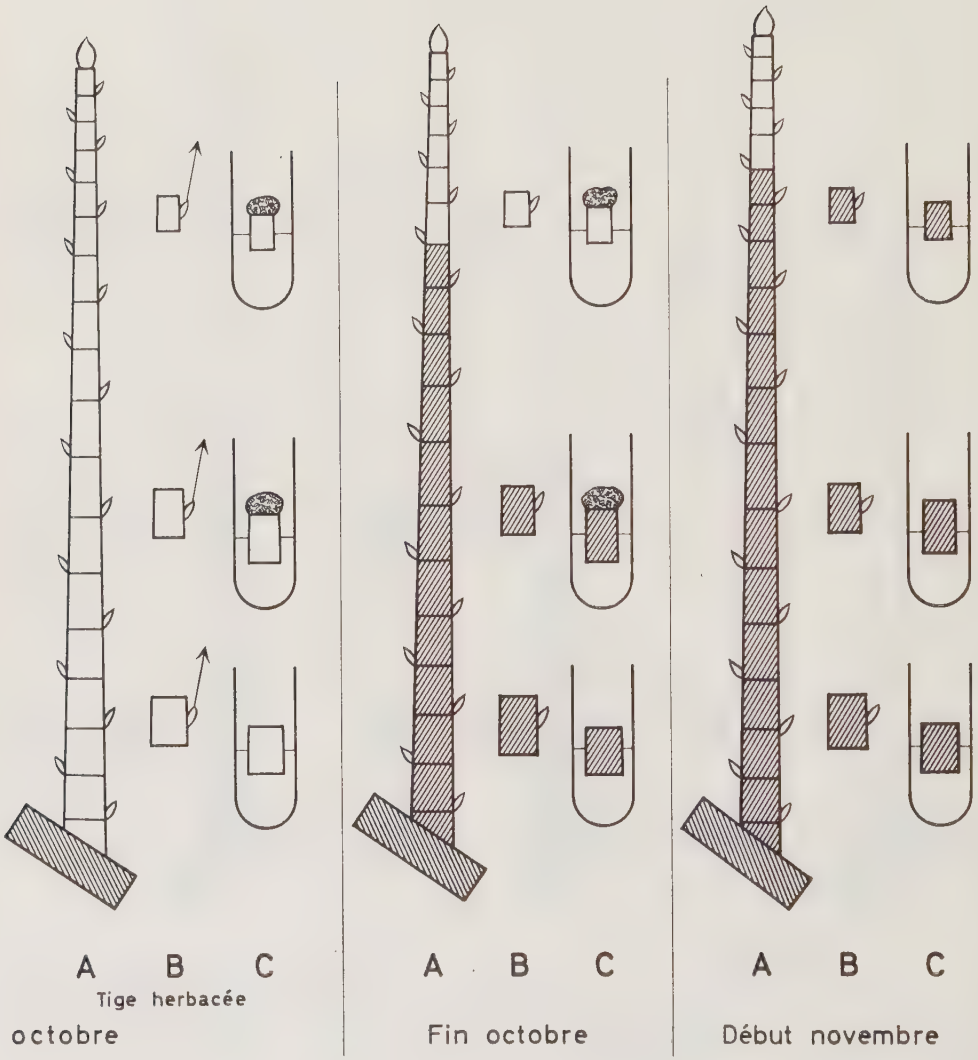


FIG. 15. — *Représentation schématique de l'aptitude à la croissance des méristèmes primaire et secondaire de* Rupestris du Lot *en fonction de l'époque et du niveau de leur prélèvement sur la tige.*

férer *in vitro* obéissent à un gradient acropète. Par ailleurs, dans les expériences de Bernstein et Fahn (1960), la retaille au mois d'août des tiges de vigne provoque la réactivation presque générale du cambium, à l'exception de plages entourant la base des bourgeons non entrés en croissance. De plus, Spiegel (1953 et 1954) a décelé chez la vigne deux inhibiteurs, présents aussi bien dans les bourgeons dormants que dans les segments d'entre-nœuds. Sievers (1961 et 1963) a constaté également la présence d'inhibiteurs de la germination et de la croissance de diverses espèces, dans des tiges de *V. vinifera*. Il faut préciser qu'il a extrait ces composés par macération dans l'eau en conditions non aseptiques. Or, Nysterakis (1961, 1962 et 1963) a montré que, lorsque l'asepsie est respectée, les inhibiteurs contenus, par exemple, dans les fruits de tomate sont incapables de provoquer *in situ* l'inhibition de la germination et de la croissance. Le jus de tomate extrait et employé stérilement ne détermine pas non plus d'inhibitions, alors que le jus obtenu par les procédés classiques est fortement inhibiteur.

L'étude comparée de l'activité potentielle des méristèmes primaires et secondaires, soustraits aux corrélations générales de la plante et placés sous des conditions externes constantes, apparaissait donc utile.

Dans ce but, l'état d'activité des bourgeons a été vérifié en même temps que celui du cambium, selon les techniques précédemment exposées. Les boutures avec bourgeon ont été placées dans des terrines et les segments d'entre-nœuds dans des tubes de culture contenant le milieu de base. Dans certains essais, les tiges étaient débitées aussitôt après prélèvement; dans d'autres au contraire, elles subissaient avant plantation, un traitement à la rindite.

A. — CAS DES TIGES NON TRAITEES

Des résultats, déjà mentionnés dans les chapitres 2 et 3, sont à utiliser de nouveau et à joindre à ceux des présentes expériences. L'ensemble est schématisé dans les figures 14 et 15.

On pourra retenir que, lorsque le bourgeon du segment placé en serre est apte à se développer rapidement, le cambium du segment de l'entre-nœud voisin est généralement capable de donner un cal *in vitro*. C'est le cas des tiges prélevées en mai et des parties herbacées de tiges récoltées début novembre (fig. 14 C). Cependant, le fait que le bourgeon soit prêt à entrer rapidement en croissance n'implique pas obligatoirement que le cambium soit apte à se diviser *in vitro* (cas des bases de tiges herbacées, début octobre). On voit également que l'incapacité du bourgeon à croître ne coïncide pas toujours avec l'incapacité du cambium à proliférer. C'est le cas des parties aoûtées des tiges prélevées début septembre et des portions herbacées récoltées fin octobre (fig. 14 F).

Ceci nous montre donc qu'il existe pendant le cycle végétatif de *Rupestris du Lot* des périodes où les méristèmes primaires et

secondaires sont, au même moment et selon leur niveau de prélèvement sur la tige, prêts ou non à entrer en activité. A d'autres moments, le cambium de certaines parties de tige est capable de proliférer *in vitro*, alors que le bourgeon latent situé immédiatement au-dessus du segment expérimenté était dormant lors du prélèvement de l'explantat; inversement, le cambium du segment cultivé *in vitro* ne prolifère pas, alors que le bourgeon qui le surmontait au moment du prélèvement était apte à entrer rapidement en croissance (1961 a).

B. — CAS DES TIGES AYANT SUBI UN TRAITEMENT PREALABLE A LA RINDITE

En vue de rechercher des preuves supplémentaires en faveur ou à l'encontre des liens susceptibles d'exister entre état de dormance des bourgeons et celui du cambium, j'ai traité ces deux organes à la rindite.

En 1955 et 1957, des boutures de *Rupestris du Lot* ont été prélevées à la chute des feuilles et, après paraffinage de leurs extrémités, ont subi un traitement à la rindite, selon le mode opératoire décrit page 33. Immédiatement après, des segments de 4 à 5 cm, pourvus d'un œil, ont été prélevés et mis sur sable à température et humidité convenables, afin de contrôler l'état de dormance des bourgeons. Parallèlement, des segments de mérithalles des mêmes boutures ont été cultivés aseptiquement dans le milieu de base. Comme précédemment, les bourgeons des boutures traitées à la rindite ont débourré plus tôt (22-23 j.) que les bourgeons des boutures témoins (27-60 j.). Le traitement à la rindite, efficace sur les bourgeons, s'est révélé par contre sans effet sur les segments cultivés *in vitro* (fig. 14 G).

Etant donnés ces résultats, j'ai voulu vérifier, chez la vigne, ceux obtenus par Gouwentak (1941) sur le frêne. Dans ce but, des segments dépourvus de bourgeons, provenant de boutures traitées à la rindite, ont été cultivés *in vitro* en présence de 1 mg/l d'ANA. Même dans ce cas, les explantats n'ont pas proliféré (1961 b). Ceci implique donc que, chez la vigne, la levée de dormance des bourgeons n'est pas une condition déterminante pour que l'auxine provoque les divisions cambiales, ou alors, le cambium de cette espèce ne se trouve pas dans un état de dormance conforme à la définition donnée par Gouwentak.

*
**

Des relations établies entre l'activité du méristème primaire et celle du méristème secondaire, les points suivants sont à retenir.

Même en dehors des périodes d'activité de la vigne et en l'absence de toute action des bourgeons, le cambium de tige de plusieurs variétés de *Vitis* (exemple *Syrah*) est capable de se diviser *in vitro* dans un milieu simple sans auxine. Ceci constitue un argument

de poids en faveur de l'autonomie des méristèmes secondaires de ces vignes.

D'autres variétés (exemple *Rupestris du Lot*) ne présentent pas le même comportement : lors du repos végétatif, leur cambium est incapable de se diviser dans le milieu de base utilisé. Ceci m'a donc laissé croire que l'activité d'un tel cambium dépendait de celle des bourgeons. Cette conclusion est appuyée sur un autre fait : une bouture de *Rupestris du Lot* pourvue d'un bourgeon en croissance donne un cal en culture aseptique. Ainsi, un méristème primaire laissé sur l'explantat est capable de provoquer la prolifération du méristème secondaire du segment.

Toutefois, il ne faut pas oublier que le cambium de *Rupestris du Lot* ne réagit pas à l'action de diverses substances de croissance et en particulier d'auxines, composés considérés comme le principal constituant du stimulus provenant du méristème primaire en croissance. Un tel comportement pourrait alors être retenu comme une preuve indirecte de l'autonomie du cambium...

Au terme de cette étude, l'auteur a le sentiment qu'il est facile de conclure à l'aide des résultats d'une expérimentation donnée. Mais il devient bien difficile chez la vigne de proposer une explication générale des phénomènes de dormance et de dépendance des deux méristèmes si l'on tient compte de l'ensemble des données fournies par des expérimentations et techniques différentes. Aucune des théories actuellement connues ne peut rendre compte de la complexité des faits constatés.

Avant de décrire les expériences qui constituent la deuxième partie de cette thèse, je dois signaler deux observations qui m'ont obligé à modifier la ligne de recherches que je m'étais proposée.

L'une d'elles se rapporte à la formation d'un abondant cal sur un seul segment de *Rupestris du Lot* cultivé pendant l'hiver, alors que les autres explantats, de 1955 à 1959, en étaient dépourvus. Il s'agissait d'une culture apparemment infectée par une bactérie.

L'autre observation est la suivante : au cours de l'hiver 1961, la presque totalité d'une série de cultures de *Rupestris du Lot* a donné des cals plus ou moins volumineux, sans présenter, comme précédemment, l'aspect de cultures contaminées.

A mon avis, deux hypothèses étaient possibles : la cause de la prolifération était dans les deux cas une infection, ou bien, la grande stabilité du phénomène antérieurement établi comportait des exceptions. La première de ces hypothèses m'a paru intéressante à vérifier tout d'abord. Telle fut l'origine de la deuxième partie de ce mémoire, consacrée à l'étude de l'induction, par des bactéries, de la prolifération de tissus végétaux.

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE VI

ACTION DE BACTERIES SUR LA CROISSANCE DES PLANTES

Avant de décrire les expériences relatives à l'action de bactéries sur la division cellulaire des végétaux supérieurs, il me paraît utile de rappeler brièvement quelques travaux consacrés aux effets des bactéries sur les plantes.

Dans une mise au point complète, il serait nécessaire de considérer en premier lieu les interactions entre graines en voie de germination et bactéries du sol. Ce sujet vient précisément d'être traité par Verona (1963), dans un excellent article consacré plus généralement aux microorganismes telluriques de la « spermosphère », lieu entourant la graine après sa mise en terre.

Une revue détaillée des interactions bactéries-végétaux supérieurs devrait également comporter des précisions sur la systématique des bactéries de la rhizosphère et des bactéries associées aux tissus apparemment normaux, sur leur répartition, sur les substances excrétées par les végétaux et leur action sur la microflore bactérienne, sur l'intérêt agronomique de tous ces problèmes...

Sans perdre de vue la complexité de ce domaine biologique, je me bornerai à signaler les faits établis relatifs à l'action des bactéries sur les végétaux, les moyens d'étude utilisés par les différents auteurs et les hypothèses avancées pour expliquer les phénomènes observés. Certains des autres problèmes cités sont traités dans les mises au point des auteurs suivants : Katznelson et coll. (1948), Clark (1949), Starkey (1958), Lochhead (1958), Pochon et coll. (1958 b)... J'omettrai volontairement de mentionner les travaux portant sur la formation des nodosités et sur les bactéries qui la provoquent, ce sujet étant bien distinct.

I. — Effets généraux des bactéries sur la croissance des plantes

J'envisagerai tout d'abord l'action inhibitrice ou stimulante de tels germes sur des plantes entières (tableau 18). De l'ensemble

des données ainsi réunies, un certain nombre de faits sont à retenir.

1. Selon les espèces végétales et bactériennes, les résultats sont très variables : la croissance des plantes est tantôt inhibée, tantôt stimulée (1).

2. Les plantes dont le développement est freiné par des bactéries présentent souvent des anomalies morphologiques et pigmentaires. C'est ainsi que l'action de certaines bactéries peut déterminer des chloroses chez la vigne.

3. Différentes souches d'une même espèce peuvent présenter des actions très diverses : sur 29 souches de *Bacillus pumilus*, par exemple, 11 inhibent la croissance de plantules de tabac, les 18 autres se montrant sans effet (Steinberg, 1947).

TABLEAU 18

Action de bactéries sur la croissance de plantes entières.

	Bactéries	Espèces végétales	Auteurs
STIMULATION	*B. subtilis, Ps. fluorescens*	*Lemna minor*	Clark et Roller 1931
	Bacterium denitrificans	*Hordeum* et *Malus*	Kozlowski 1935
	A. chroococcum	*Hordeum*	Spicher 1954
	Espèces d'*Azotobacter* et *Bacterium album*	*Vitis*	Popova 1954
	Espèces d'*Azotobacter* et de *Pseudomonas*	*Triticum*	Krassilnikov 1958
	Espèces de *Bacillus* et de *Pseudomonas*	*Triticum*	Smalij 1960
	Des bactéries de la rhizosphère	*Avena*	Rempe et Kaltagova 1962
INHIBITION	*B. pyocyanea*	*Hordeum*	Kozlowski 1935
	10 sur 25 espèces de bactéries du sol	*Nicotiana Tabacum*	Steinberg 1947
	Espèces d'Actinomycètes	*Vitis* (chlorose)	Koublitzkaja 1955 et Krassilnikov et coll. 1956
	Ps. fluorescens, Ps. pyocyanea, B. prodigiosum	*Nasturtium, Linum, Pisum, Triticum*	Stille 1957
	A. chroococcum	*Zea Mays*	Pochon et de Barjac 1958 a
	Espèces d'Actinomycètes	*Zea Mays, Triticum* (chlorose)	Krassilnikov 1958
	Des bactéries du sol	*Trifolium subterraneum Solanum lycopersicum*	Bowen et Rovira 1961
	A. chroococcum	*Linum usitatissimum*	Chalvignac 1962

(1) Ces faits ont trouvé des applications, parfois discutées, en agronomie; c'est le cas de la bactérisation des graines.

4. Les tiges et racines d'une plante peuvent réagir différemment à l'action de bactéries. Certaines de ces dernières activeraient nettement et uniquement la croissance des racines et d'autres uniquement celle des tiges.

5. Dans le cas de l'inhibition de la croissance d'une plante, ce phénomène est souvent plus marqué sur les racines que sur les tiges.

6. Les bactéries sporulantes — qui nous intéresseront par la suite — sont souvent sans effet sur le développement des plantes entières (Kozlowski, 1935).

Afin de diminuer le nombre de facteurs susceptibles d'intervenir dans ces phénomènes, des chercheurs ont entrepris la culture *in vitro* d'organes ou de tissus isolés en présence de bactéries (tableaux 19 et 20).

A. — ACTION DE BACTERIES SUR LA CROISSANCE DE RACINES ISOLEES

De tels organes ont souvent été utilisés car, dans les conditions naturelles, les racines vivent normalement en présence des microorganismes du sol. Elles sont, d'autre part, plus sensibles à l'action de nombreuses substances que les parties aériennes.

L'association des cultures de racines excisées et de bactéries (tableau 19) a permis d'établir les faits suivants :

1. De même que pour les plantes entières, l'action des différentes bactéries sur la croissance de racines isolées est très variable.

2. La diversité des réactions observées en présence de plusieurs souches d'une même espèce est confirmée ici. Sur deux souches de *Pseudomonas fluorescens*, Krassilnikov (1958) a constaté par exemple que l'une se montre très active sur la croissance de racines isolées de blé, l'autre étant sans action.

3. Les Actinomycètes, certains *Azotobacter* et *Pseudomonas* se révèlent le plus souvent stimulants pour les racines.

4. Les bactéries sporulantes inhibent fréquemment la croissance de racines excisées (Krassilnikov, 1958), alors qu'elles sont sans action sur celle de plantes entières.

5. Certains auteurs tels que Kandler (1951) supposent que les bactéries agiraient en produisant une substance : l'acide β-indolyl-acétique. Stolp (1952) pense que ce composé, seul, ne peut provoquer les effets observés. Bukatsch et Heitzer (1952), enfin, concluent à l'intervention conjuguée de l'AIA et de substances thermolabiles.

TABLEAU 19

Action de bactéries sur la croissance de racines excisées

	Microorganismes	Espèces végétales	Auteurs
STIMULATION	*Azotobacter vinelandii*	*Triticum, Pisum*	Krassilnikov et Garkina 1939
	A. chroococcum, Ps. fluorescens	*Triticum, Pisum, Hordeum*	Krassilnikov 1958
INHIBITION	*A. chroococcum*	*Triticum, Pisum*	Krassilnikov et Garkina 1939
	B. mycoïdes, B. subtilis, A. chroococcum	*Zea Mays, Pisum, Phaseolus*	Kandler 1951
	Achromobacter, B. mycoïdes	*Zea Mays, Pisum*	Stolp 1952
	Azotobacter	*Triticum, Hordeum, Pisum*	Bukatsch et Heitzer 1952
	Bactéries sporulantes en général		Krassilnikov 1958

B. — ACTION DE BACTERIES SUR LA FORMATION DE CALS

Peu de recherches ont été consacrées à l'action de bactéries sur des tissus végétaux susceptibles de produire des cals *in vitro*. Ces travaux concernent d'ailleurs presque toujours des germes pathogènes et en particulier *Agrobacterium tumefaciens*, agent du crown-gall (tableau 20).

a) Bactéries pathogènes

Gioelli (1940 a et b) est certainement le premier à avoir réalisé l'association tissu en culture-bactérie, en déposant *Agrobacterium tumefaciens* dans des blessures pratiquées sur des fragments de racines de carotte cultivés *in vitro*. Des néoformations se développent localement, plus abondantes qu'en l'absence de bactéries. Cet auteur a montré aussi que des filtrats de cultures accélèrent de même les divisions cambiales et libériennes.

On sait qu'après l'inoculation d'*Agrobacterium tumefaciens* à une plante, deux types d'excroissances peuvent apparaître : une tumeur primaire au point de piqûre et une tumeur secondaire, dépourvue de bactéries, à une certaine distance du point d'inoculation (White et Braun, 1941). Une voie de recherches consistait à cultiver précisément des tissus prélevés sur les tissus ainsi néoformés. Maintenant à 45°C pendant 5 j. des fragments de tumeurs primaires de *Vinca rosea* cultivés *in vitro*, White (1945) réussit à éliminer les bactéries. Utilisant également des fragments de tumeurs primaires, De Ropp (1947 b) et Gautheret (1947) consta-

tent l'envahissement du milieu par *Agrobacterium tumefaciens*. Au cours des cultures successives, ils observent tantôt la survie des tissus avec disparition des bactéries, tantôt la mort des tissus avec multiplication des bactéries. Quant aux tumeurs secondaires, sans bactéries, elles constituaient un matériau de choix pour l'établissement de cultures de tissus (White et Braun, 1941).

A l'aide de cultures associées, Volcani, Riker et Hildebrandt (1953) étudient l'action des bactéries de la pourriture molle et de deux bacilles sur les cultures secondaires de quelques tissus. *Bacillus polymyxa*, en particulier, provoque une dissociation complète de divers tissus. La croissance de ces derniers est également plus ou moins entravée par la présence de filtrats de culture de toutes ces bactéries.

Les travaux de Philipson et Sheat (1963) méritent une mention particulière. Cultivant en conditions aseptiques, non des fragments de tissus, mais des plantules d'*Helianthus*, ces auteurs ont étudié l'action de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et d'une espèce saprophyte *Sarcina lutea* sur la prolifération de l'hypocotyle décapité. Ils ont montré ainsi, après mes premières recherches (1958, 1959...), que ces bactéries sont capables de provoquer la formation de cal. Par contre, après inoculation à des plantules cultivées en serre, *E. coli* s'est montrée inefficace.

TABLEAU 20

Action de bactéries sur la croissance de tissus cultivés in vitro. *Cultures primaires* (1) ; *cultures secondaires* (2).

	Microorganismes	Espèces végétales	Auteurs
STIMULATION	*Agrobacterium tumefaciens*	*Daucus Carota*, rac. (1), *Sterculia platanifolia*, tige (1)	Gioelli 1940 a et b
	id.	*Helianthus tuberosus*, parench. de tubercule (1)	Kulescha 1951
	id.	*Nicotiana Tabacum*, parench. médullaire + xylème (1)	Braun 1956
	Bactérie non déterminée	*Daucus Carota* (2)	Zielinski 1955
INHIBITION	*Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia*, *B. subtilis*, *B. polymyxa*	*Daucus Carota*, crown-gall (2), *Daucus Carota*, *Calendula*, *Solanum tuberosum*, *Vinca* (2)	Gautheret 1959 Volcani, Riker et Hildebrandt 1953

b) Bactérie indéterminée

En dehors des agents du crown-gall et des nodosités, une seule bactérie, d'ailleurs non déterminée, aurait exercé une action sti-

mulante sur la prolifération *in vitro* des tissus végétaux (1). Zielinski (1955) rapporte, en effet, avoir obtenu une accélération de la croissance de tissu de carotte sous l'effet d'une bactérie. Cette dernière provoquerait également une augmentation de la teneur en chlorophylle des tissus.

Etant donné son grand intérêt, et bien qu'elle n'ait pas été vérifiée *in vitro*, l'action particulière des bactéries sur la rhizogénèse doit être signalée ici. Stimuleraient ainsi l'enracinement de boutures appartenant à diverses espèces : certaines souches d'*Azotobacter* et de *Bacterium album* (Popova, 1954), *Xanthomonas beticola* et *Agrobacterium tumefaciens* (Chajlakhjan et coll., 1962).

II. — Nature des « substances de croissance » synthétisées par les bactéries

Une question vient immédiatement à l'esprit : comment agissent les bactéries pour provoquer les phénomènes qui viennent d'être signalés ?

Je ne ferai que citer pour mémoire la fixation de l'azote atmosphérique par les *Rhizobium* et la possibilité qu'ont diverses bactéries de minéraliser ou solubiliser dans certaines conditons des composés non assimilables par les plantes.

— Pour la grande majorité des auteurs, l'action des bactéries sur les plantes doit être imputée à la production de substances de croissance. Selon la dose de ces dernières et la sensibilité du végétal ou des organes qui le constituent, la croissance se trouverait stimulée ou inhibée.

— Depuis longtemps certains auteurs supposent que la microflore permettrait la destruction de substances inhibant la croissance des plantes et excrétées par les racines. Ceci a été montré en particulier par Bonner (1946) et Muller et Muller (1956).

— Selon d'autres enfin, la bactérisation accroîtrait l'activité des enzymes des végétaux (Rempe et Kaltagova, 1962).

Les produits de métabolisme des bactéries sont fort variés. Il est sans doute téméraire de considérer séparément l'action de substances synthétisées car on commence à connaître maintenant toute l'importance des rapports entre différents composés. C'est ainsi que Nysterakis (1953, 1954 a et 1958) réussit à lever l'inhibition auxinique d'un champignon — mise en évidence par Berducou (1950) — par la simple addition au milieu de culture de biotine ou

(1) Délaissant le règne végétal, il est intéressant de citer les résultats obtenus par Lasfargues et Delaunay (1947). Ces auteurs ont signalé la prolifération plus abondante d'une culture de rate de cobaye, au contact d'une colonie d'un germe non identifié. Ils supposent que l'autolyse de ce dernier entraîne la libération d'un constituant nucléoprotéique.

de citrulline. Il pense donc que cette inhibition dépend, non de la seule quantité d'auxine renfermée dans le milieu, mais d'un rapport auxine/métabolites antiauxines. Dans le même ordre d'idées, Berducou (1958) supprime l'inhibition auxinique à l'aide de sulfate de cuivre et Jerebzoff-Quintin (1959) à l'aide de nombreux acides organiques. Wickson et Thimann (1958) ont montré par ailleurs que l'inhibition, due à l'auxine, de bourgeons de tiges de pois isolées peut être levée par la kinétine. On sait d'autre part que cette substance ne provoque la division cellulaire qu'en présence d'AIA.

Cependant, jusqu'à ce jour la plupart des chercheurs ont orienté leurs travaux sur l'étude particulière d'une substance ou d'un groupe de substances. Je réserverai donc maintenant quelques lignes à chacun des groupes de composés élaborés par les bactéries et susceptibles de provoquer des modifications dans la croissance des plantes.

A. — SYNTHESE D'AUXINE

Alors qu'on ne soupçonnait pas encore l'existence des « substances de croissance », l'acide β-indolyl-acétique était caractérisé et isolé de cultures de différents germes : *Escherichia coli* (Hopkins et Cole, 1903), *Bacillus mycoides* (Frieber, 1921). C'est Nielsen qui montra le premier, en 1928, que les microorganismes produisent des substances capables de stimuler la croissance des plantes; il s'agissait en l'occurrence d'un champignon, *Rhizopus suinus*. Depuis, de nombreux auteurs ont signalé que d'autres champignons sont également aptes à synthétiser des auxines (mise au point de Gruen, 1959).

En ce qui concerne les bactéries, le tableau 21 résume les résultats obtenus à ce jour. J'ai passé sous silence les cas particuliers d'*Agrobacterium tumefaciens* en raison des nombreuses publications et mises au point consacrées à l'action de ces espèces. Par contre, j'ai jugé utile de signaler dans ce tableau la présence de tryptophane dans certains milieux de culture destinés à être inoculés. On sait, en effet, que la transformation de cette substance en AIA s'opère facilement, par exemple par autoclavage ou sous l'action de divers microorganismes. Après la croissance bactérienne, on devait donc s'attendre à trouver souvent de l'AIA dans de tels milieux.

Dans le tableau 21, que j'ai voulu condenser au maximum, il n'est pas tenu compte des autres constituants du milieu, ni des conditions physiques de la culture bactérienne. Or, certains auteurs ont montré l'importance de facteurs tels que la source d'azote : les nitrites, le sulfate d'ammoniaque, l'urée et l'asparagine inhiberaient la formation d'auxine dans des cultures d'*Azotobacter* âgées de 5 jours (Smalij et Bershova, 1957). Chez cette espèce et chez diverses bactéries isolées de la rhizosphère de maïs et de pomme de terre, des oligo-éléments, en particulier le molybdène et le bore, stimuleraient la production d'auxine (Smalij et Bershova, 1957 et

TABLEAU 21

Synthèse d'auxines par des bactéries (AIA : acide β-indolyl-acétique, AIPy : acide β-indolyl-pyruvique, AIC : acide indolyl-3-carbonique).

Microorganismes	« Test biologique »	Auxine	Auteurs
MILIEU SANS TRYPTOPHANE			
Azotobacter chroococcum	Courbure coléopt.	?	Raznizina 1938
id.	Embryon de plantes	AIA surt	Kronberger 1949
id.	Racines excisées	?	Kandler 1951
id.	Racines excisées	Auxine + ?	Bukatsch et coll. 1952
id.	id.	AIA	Bukatsch et coll. 1956
id.	Section coléopt.	AIA	Smalij et coll. 1957
id.	Racines excisées	AIA + ?	Burger et coll. 1958
id.	Plantules *Hordeum*	AIA + AIC	Vancura et coll. 1960
A. vinelandii	Racines excisées	AIA	Bukatsch et coll. 1956, Burger et coll. 1957
A. agile	Section coléopt.	AIA	Smalij et coll. 1957
19 esp. bact. de sols	Courbure coléopt.	AIA	Roberts et coll. 1939
E. coli, Aerobacter aerogenes	Courbure coléopt.	?	Burkholder 1939
B. subtilis, B. mycoïdes	Racines excisées	?	Kandler 1951
Des *Pseudomonas*, des *Bacillus*	Section coléopt.	AIA	Smalij 1958
Des bact. rhizosphère, *B. megaterium* var. *phosphaticum*	Section coléopt.	AIA	Bershova 1959
Des *Arthrobacter*	Section coléopt.	AIA	Katznelson et coll. 1961
Des *Bacillus*, des *Actinomycètes*	Germination de pois nains	AIA	Panossian et coll. 1963
MILIEU AVEC TRYPTOPHANE AJOUTE			
E. coli, Ps. fluorescens	—	AIA + AIPy	Stowe 1955
Des *Pseudomonas*, des *Bacillus*	Section coléopt.	AIA	Smalij 1958
Pseudomonas savastanoi	—	AIA	Beltra 1959
Flavobacterium sp., Klebsiella aerogenes, B. megaterium....	—	AIA	Montuelle 1963
MILIEU DONT CERTAINS CONSTITUANTS RENFERMENT DU TRYPTOPHANE			
B. mycoïdes, B. subtilis, B. radiobacter, Prot. vulg.	Courbure coléopt.	?	Boysen-Jensen 1931
Ps. fluorescens, Sarc. lutea, B. subtilis	Courbure coléopt.	?	Raznizina 1938
B. radiobacter	Courbure coléopt.	?	Locke et coll. 1939
51 esp. bact. de sols	Courbure coléopt.	AIA	Roberts et coll. 1939
B. Solanacearum	Courbure coléopt.	?	Grieve 1939

Bershova, 1959). L'acidité du milieu interviendrait également pour modifier la synthèse d'AIA (Smalij et Bershova, 1957). Les mêmes auteurs ont enfin constaté un fait très intéressant : en présence de *Bacillus mycoides* ou de *Pseudomonas radiobacter*, la formation d'AIA est plus intense que dans les cultures pures d'*Azotobacter*. Ces divers résultats incitent à la prudence et rappellent, s'il en était besoin, les nombreuses difficultés à surmonter pour obtenir des informations sur de telles synthèses dans les conditions naturelles.

B. — SYNTHESE DE GIBBERELLINES

Isolées à partir de cultures de *Fusarium moniliforme*, ces substances ont été recherchées dans les cultures de diverses bactéries. Dans quelques cas, des composés « analogues » ont été décelés (tableau 22).

TABLEAU 22

Synthèse par des bactéries de substances analogues à la gibbérelline.

Microorganismes	« Test biologique »	Auteurs
A. chroococcum	Elongation section feuilles étiolées et mésocotyles de *Zea Mays*	Vancura 1961
Arthrobacter globiformis	Germination, élongation hypocotyle laitue, élongation entre-nœud pois nain.	Katznelson et coll. 1962
Bactéries isolées de sols et de rhizosphère	Germination pois nain	Panossian et coll. 1963

C. — SYNTHESE DE SUBSTANCES ANTIBIOTIQUES

On sait que des antibiotiques sont synthétisés par des bactéries. C'est ainsi que *Bacillus subtilis* produit la bacitracine, la subtiline, la bacilline, la subténoline et la bacillomycine..., *Bacillus brevis* synthétise la tyrothricine, la tyrocidine et la gramicidine.

L'action de nombreux antibiotiques sur les plantes a été étudiée et leurs effets sont les suivants : inhibition et stimulation de la croissance ou de certaines phases de celle-ci et inhibition de la synthèse de pigments. Il est intéressant de noter que le dernier phénomène a déjà été observé lors de certaines associations plantes bactéries. Les différentes actions exercées par des antibiotiques bactériens sont résumées dans le tableau 23.

D. — SYNTHESE DE VITAMINES

Les bactéries synthétisent de nombreuses vitamines et leurs cultures en constituent même parfois des sources industrielles

tel *Bacillus megaterium* pour la vitamine B 12 (Garibaldi et coll., 1953). La bibliographie relative à ce sujet est très abondante, mais il nous suffira ici de citer les travaux de Burkholder et Mc Veigh, 1942, Thompson, 1942, Lee *et* Burris, 1943, Schopfer, 1943, Mal'Ceva, 1961...

TABLEAU 23

Action d'antibiotiques produits par des bactéries sur la croissance de végétaux supérieurs.

	Antibiotiques	Espèces végétales	Auteurs
STIMULATION	Bacitracine	*Lemna minor* (pl. entière)	Nickell et coll. 1954
	Bacitracine	*Rumex* (tissu tumoral)	Nickell 1952 et 1953
ACTION NULLE	Tyrothricine	*Raphanus sativus* (pl. entière)	Cortesi et coll. 1953
INHIBITION	Polymyxine	*Nasturtium officinale* (rac. excisée)	Brian 1957
	Bacitracine	*Helianthus annuus* (cal)	Rier et coll. 1956

L'action de quelques vitamines sur la division cellulaire a été envisagée page 62.

E. — SYNTHESE D'ACIDES AMINES

La recherche des acides aminés produits par les bactéries a fait également l'objet de très nombreux travaux. Je me bornerai ici à en signaler quelques uns, relatifs à la détection d'acides aminés sécrétés ou excrétés dans le milieu (acides aminés « libres »).

Dagley, Dawes et Morrison (1950) ont signalé la présence d'histidine, acide aspartique, acide glutamique et alanine dans des filtrats de milieux de culture simples (sels minéraux et glucose) d'*Escherichia coli* et d'*Aerobacter aerogenes*.

Bukatsch, Burger et Schluter (1956) n'ont pas trouvé d'acides aminés dans les milieux de culture d'*Azotobacter*, si ce n'est de faibles quantités d'alanine dans des milieux d'*Azotobacter vinelandii* contenant au départ du mannitol.

Zaizeva et coll. (1959) ont montré que la quantité d'acides aminés sécrétés par *Azotobacter agile* dépend de la source d'azote du milieu de culture, l'azote ammoniacal se révélant le plus favorable.

On sait depuis longtemps que les levures sont douées du pouvoir d'induire la division de certaines cellules. Quelques-unes des

substances contenues dans leurs extraits sont connues. Sandstedt (1960) et Sandstedt et Skoog (1960) ont cherché à reproduire l'action stimulante de ces extraits à l'aide d'un milieu synthétique. Un mélange d'acides aminés a été ajouté avec succès à un milieu de culture de tissu de tabac, mais sans pour autant reproduire une action équivalente à celle de l'extrait lui-même (1).

F. — SYNTHESE D'AUTRES COMPOSES

Dans les filtrats de cultures des bactéries, des substances plus complexes ont été parfois décelées.

Dès 1924, Mockeridge constate l'activation de la croissance de *Lemna minor* par addition de cultures autoclavées d'*Azotobacter* de même que par addition de dérivés nucléiques. Elle considère que ces derniers interviennent dans la stimulation due à *Azotobacter.*

Cette hypothèse fut reprise plus tard, mais en vue d'essayer d'élucider le mécanisme de la formation de galles sous l'action d'*Agrobacterium tumefaciens.* Le problème du crown-gall n'entre pas dans le cadre de cette étude. Je signalerai cependant que Manigault et Stoll (1958) ont montré que la fraction active de cette bactérie est liée étroitement aux acides nucléiques. Elle ne peut néanmoins être confondue avec le principe inducteur (PIT) car, seule, elle ne peut provoquer la formation d'une véritable tumeur.

Certains auteurs pensent cependant que le PIT serait un acide désoxyribonucléique ou en contiendrait un certain pourcentage (Klein, 1952, Thomas et Klein, 1959, Bender et Brucker, 1956, 1958 et 1959). Leurs résultats ont été mis en doute par Kupila et Stern (1961), puis sévèrement critiqués par Braun (1962). Manil et coll. (1955), d'ailleurs, n'ont pas réussi à obtenir de tumeurs typiques par application à des plantes d'acides nucléiques extraits d'*Agrobacterium tumefaciens.*

Que deviennent, dans la nature, les substances synthétisées par les microorganismes ? Sécrétées pendant leur vie ou libérées seulement après leur mort, elles peuvent connaître diverses destinées : être dégradées, absorbées par les plantes ou adsorbées par les colloïdes du sol. On a trouvé ainsi dans le sol des acides aminés, des sucres, des vitamines, des composés nucléiques, des substances phénoliques, des antibiotiques et des composés présentant une activité auxinique. Dans quelle mesure chacune de ces substances influence-t-elle la croissance des plantes ?

On possède encore peu d'informations sur les processus de l'entrée des composés organiques dans les végétaux supérieurs.

— Le cas des substances gazeuses ne soulève pas de difficultés majeures; selon Cholodny (1951), certaines d'entre elles, produites

(1) Des tentatives d'isolement de substances contenues dans la levure de bière et actives sur la division cellulaire ont été effectuées par ailleurs, mais sans succès (Strong, 1958).

par les germes du sol, seraient capables de stimuler la croissance des racines. En fait, on ignore actuellement les effets de tels composés sur les plantes.

— Par contre, on sait depuis longtemps que les substances organiques de faible poids moléculaire, tels que les acides aminés par exemple, peuvent pénétrer dans les plantes.

— Quant aux grosses molécules, leur entrée dans les végétaux est encore très discutée. Dès 1931, Moritz et von Berg ont prétendu que des substances comme l'ovalbumine étaient capables de pénétrer dans les plantes. Plus tard, Skarnes (1952) a montré que ce phénomène était également possible pour certains virus. Depuis, l'emploi d'éléments marqués a permis de montrer que des protéines (lysozyme, hémoglobine, ribonucléase...) peuvent entrer directement dans les plantes (Mac Laren et coll., 1960).

***

La culture simultanée *in vitro* de tissus aptes à produire des cals et de diverses bactéries constitue une technique séduisante, encore peu exploitée, pour l'étude d'associations tissus-bactéries. Les expériences entreprises jusque-là concernent surtout des germes pathogènes et en particulier des parasites obligatoires. Le plus souvent, ceux-ci déterminent des ralentissements de croissance allant jusqu'à la destruction des tissus, sauf *Agrobacterium tumefaciens*, l'agent bien connu du crown-gall. Si l'on laisse de côté ce cas particulier, il faut reconnaître que la stimulation de la prolifération, due à des bactéries, est très rare; au début de cette étude, elle n'avait été constatée que par un seul auteur, sous l'effet d'une bactérie d'ailleurs indéterminée.

Aussi, me suis-je proposé de rechercher si le phénomène de prolifération constaté accidentellement dans des cultures de *Rupestris du Lot* n'était pas dû à des germes microbiens. Dans le cas de certaines cultures, la présence de microorganismes, de type bactéries, était certaine, alors que les autres cultures ne paraissaient pas infectées.

La seconde partie de ce mémoire est donc consacrée à l'isolement de certaines bactéries et à l'étude du déclenchement possible, par celles-ci, de la prolifération des tissus de certains *Vitis*. Sont décrits en outre les essais destinés à étendre les résultats initialement obtenus à d'autres germes et tissus végétaux.

CHAPITRE VII

ACTION DE *BACILLUS MEGATERIUM* ET D'AUTRES BACTERIES SUR LES TISSUS DE CERTAINES VARIETES DE VIGNE CULTIVES *IN VITRO*

Le germe que je tenais pour responsable de la prolifération pendant l'hiver d'un explantat de Rupestris du Lot *a été isolé puis identifié. L'étude de l'action de la souche isolée de* Bacillus megaterium, *celle de deux autres souches et celle d'autres bactéries, a été entreprise tout au long d'un cycle végétatif, sur des tissus de* Vitis.

J'ai précédemment rapporté que, contrairement à la normale, un segment de *Rupestris du Lot* prélevé en hiver, cultivé dans un milieu accidentellement infecté par un seul microorganisme, semblait-il, avait donné un cal. Par la méthode des dilutions successives, j'ai isolé le germe supposé responsable de la prolifération. Je dois son identification précise à l'amabilité de Pochon et Thibault, de l'Institut Pasteur de Paris : il s'agissait de *Bacillus megaterium de Bary* (1).

Entre 1955 et 1959, de nombreuses séries de cultures de tiges furent alors effectuées en présence de ce bacille, afin d'étudier son action sur les segments de différentes variétés de vigne, notamment *Rupestris du Lot* et *Syrah,* aussi bien pendant la période de repos végétatif que durant la période de végétation.

Protocole expérimental

L'inoculum est obtenu de la façon suivante. Un milieu liquide Heller, glucosé à 3 %, réparti à raison de 60 ml par erlenmeyer (300 ml), est ajusté à pH 6 après stérilisation. Après inoculation de *B. meg.,* l'ensemble est laissé en incubation à 26 °C ± 1 et agité mécaniquement pendant 38 heures (60 oscillations de 9 cm d'amplitude par minute).

(1) Abréviation utilisée par la suite : *B. meg.*

Dans le milieu de base réparti comme d'ordinaire à raison de 30 ml par tube, on ensemence alors les explantats, puis on ajoute 3 gouttes de suspension bactérienne, obtenue comme il est indiqué ci-dessus. Des segments cultivés stérilement dans le milieu de base constituent les témoins. Tous les tubes sont maintenus dans les mêmes conditions externes.

J'envisagerai d'abord les réactions, en présence de *B. meg.*, des variétés dont les segments ne prolifèrent pas dans le milieu de base en hiver (groupe *Rupestris du Lot*). Puis, je résumerai brièvement celles des variétés qui prolifèrent normalement en hiver (groupe *Syrah*).

I. — Réactions, au cours de l'année, des segments de variétés du groupe *Rupestris du Lot*

Antérieurement, j'ai classé dans ce groupe les variétés *Rupestris du Lot*, *Riparia Gloire* et *Chasselas de Moissac*. La plus employée ici a été *Rupestris du Lot*. Au cours de cette étude, je considérerai d'abord la formation de cal puis celle des racines.

A. — FORMATION DE CAL EN PRESENCE DE *BACILLUS MEGATERIUM*

Pour faciliter la comparaison, je donnerai simultanément le comportement des cultures effectuées pendant les périodes de repos végétatif et de végétation.

Cultures pendant le repos végétatif

La culture simultanée, dans un même tube, de segments de *Rupestris du Lot* et de *B. meg.* permet la prolifération des explantats dans une proportion de 99 % (observations sur 391 cultures).

L'apparition de cal est d'autant plus rapide que prélèvement et inoculation sont effectués plus près de l'entrée en croissance

Cultures pendant la période de végétation

On sait que, de mai à septembre, les segments de tiges de *Rupestris du Lot* prolifèrent normalement. Mais les explantats prélevés en octobre, à la base des tiges, ne forment pas de cals. L'inoculation de *B. meg.* dans le milieu, au moment de l'ensemencement des segments récoltés en octobre, détermine l'apparition de tissu néoformé.

En juin, juillet et août, le bacille ne modifie pas le délai d'apparition de cals. En septembre, par contre, *B. meg.* raccourcit

des bourgeons, c'est-à-dire fin mars (tableau 24).

Le poids des tissus néoformés sous l'action de *B. meg.* est élevé. Il est plus important, par exemple, qu'en culture sans bacille effectuée durant l'été (fig. 16 C et 17 D). Le poids des tissus produits par les segments de *Riparia Gloire* est plus faible que celui des cals de *Rupestris du Lot* (tableau 24).

Un cal apparaît vers l'extrémité proximale du segment de *Rupestris du Lot* et généralement un autre cal, en forme d'anneau, apparaît au niveau du milieu couvert par la colonie bactérienne (fig. 16 B). Très souvent, ces deux régions de prolifération se rejoignent, formant ainsi un manchon qui finit parfois par coiffer la portion du segment située hors du milieu (fig. 16 et planche 3, phot. 2).

Les segments de *Riparia Gloire,* qui ne prolifèrent pas non plus au cours de l'hiver en l'absence du bacille, présentent avec *B. meg.* le même aspect général que ceux de *Rupestris du Lot.* D'ordinaire, le cal ne couvre pas, cependant, toute leur portion aérienne (fig. 16 D et E).

de 7 à 10 j. le temps de « latence ». Ce dernier est diminué de 50 % chez les explantats récoltés en octobre sur les parties supérieures des tiges (tableau 24).

Les poids des cals formés en présence de *B. meg.* se montrent toujours plus faibles que ceux des cals produits en son absence (tableau 24).

Le cal formé sur l'extrémité proximale reste peu volumineux, son développement étant nettement plus faible qu'en l'absence de bacille. Immédiatement au-dessus du milieu, un anneau de tissu entoure le segment (fig. 17 B' à D'). Quelques massifs de cellules apparaissent également entre les bases des racines néoformées (fig. 17 B' à D' et planche 4, phot. 2). Nous verrons plus loin que la rhizogénèse est en effet très intense.

B. — FORMATION DE RACINES EN PRESENCE DE *BACILLUS MEGATERIUM*

De même que pour la formation de cal, le temps nécessaire à l'émission de racines est plus long en novembre qu'en mars (tableau 26).

L'action du bacille a pour effet d'homogénéiser l'émission de racines, qui était très échelonnée chez les explantats cultivés dans le milieu de base stérile (16-22 j. au lieu de 15-59 j. pour *Rupes-*

Chez *Rupestris du Lot*, de décembre à mars, et dans toutes les séries expérimentées, 50 à plus de 60 % des explantats cultivés avec *B. meg.* ont donné des racines. En novembre, l'aptitude à la rhizogénèse diminue : on observe seulement 20 % de segments avec racines (tableau 26). Les réactions des explantats de *Riparia Gloire* sont très voisines.

Les racines naissent la plupart du temps sur la portion aérienne de l'explantat de *Rupestris du Lot* et en particulier sous l'extrémité normalement radicale (fig. 17 C') puis se dirigent toutes vers le milieu de culture (planche 3, phot. 2).

Dans le cas des segments de *Riparia Gloire*, 65 % des racines, en moyenne, montrent au contraire un géotropisme négatif (fig. 16 E).

Le nombre moyen de racines formées par explantat est relativement élevé : il varie de 4 à 6, sauf au début de la période de repos végétatif, où il n'est que de 2 (tableau 16).

tris du Lot). En outre, *B. meg.* raccourcit le temps de la formation de l'ensemble des racines (tableau 26).

L'action de *B. meg.* sur la rhizogénèse est encore plus intense que pendant l'hiver. Nous avons vu qu'une proportion variable d'explantats de *Rupestris du Lot* cultivés sans bacille produisent quelques racines. Mais, sous l'action de *B. meg.*, la quasi totalité des segments donnent de tels organes (tableau 26).

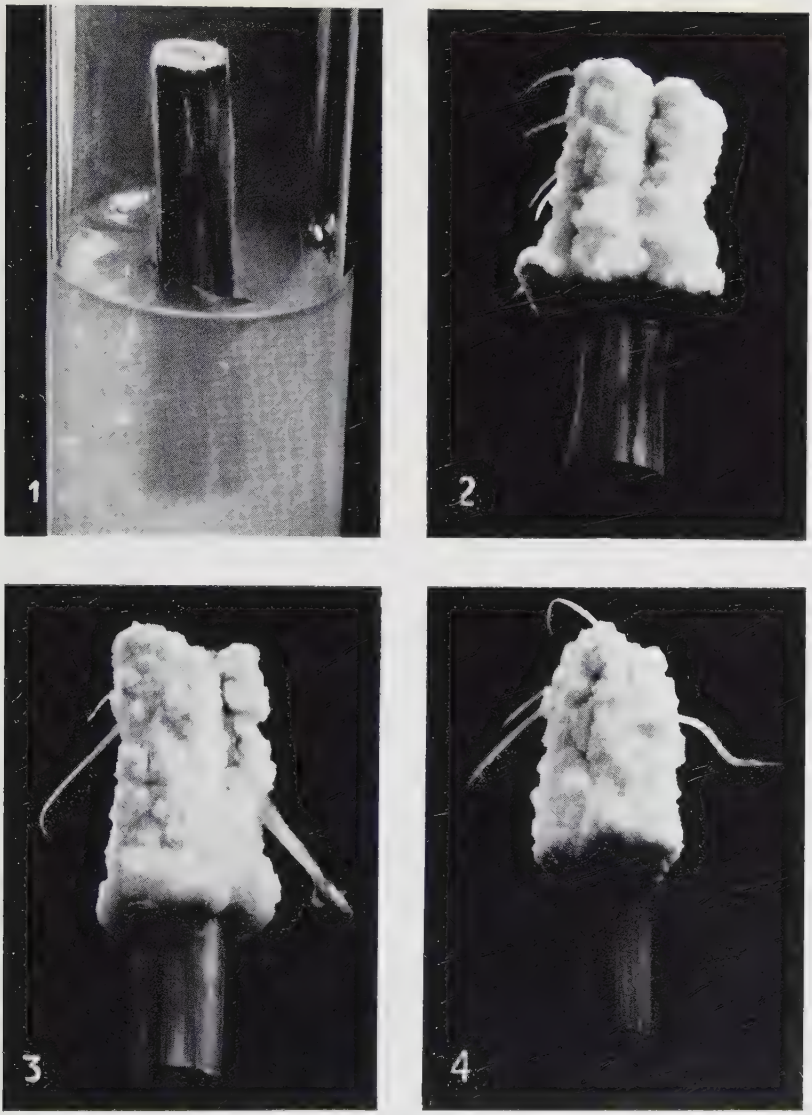
La présence de *B. meg.* ne modifie pas le géotropisme positif des racines néoformées de *Rupestris du Lot* (planche 4, phot. 2) et *Berlandieri*. Chez *Riparia Gloire* et *Syrah*, un pourcentage un peu plus élevé de racines à direction ascendante résulte de l'action du bacille (respectivement 72 % au lieu de 63 % en milieu témoin et 79 % au lieu de 65 %).

L'action de *B. meg.* est, ici encore, très marquée : en sa présence, le nombre moyen de racines est généralement au moins double de celui observé sur les explantats cultivés dans le milieu stérile (planche 4, phot. 2 et tableau 26).

La disposition en colonnes a été abandonnée pour la croissance en longueur et en diamètre des racines, étant donné que, pendant l'été et l'hiver, *B. meg.* exerce la même action. La croissance en longueur des racines néoformées cesse dès que leur extrémité entre en contact avec le voile bactérien. Celle-ci devient jaunâtre et se nécrose, si bien qu'aucune racine de *Rupestris du Lot* et de *Riparia Gloire* ne pénètre dans le milieu couvert par la colonie bactérienne (planche 4, phot. 2 et planche 3, phot. 3).

Les racines formées ont toujours un faible diamètre. C'est pendant le repos végétatif que ce caractère est le plus marqué (tableau 25).

PLANCHE 3



Test Rupestris du Lot *en hiver :* cultures de segments d'entre-nœuds prélevés au cours du repos végétatif.

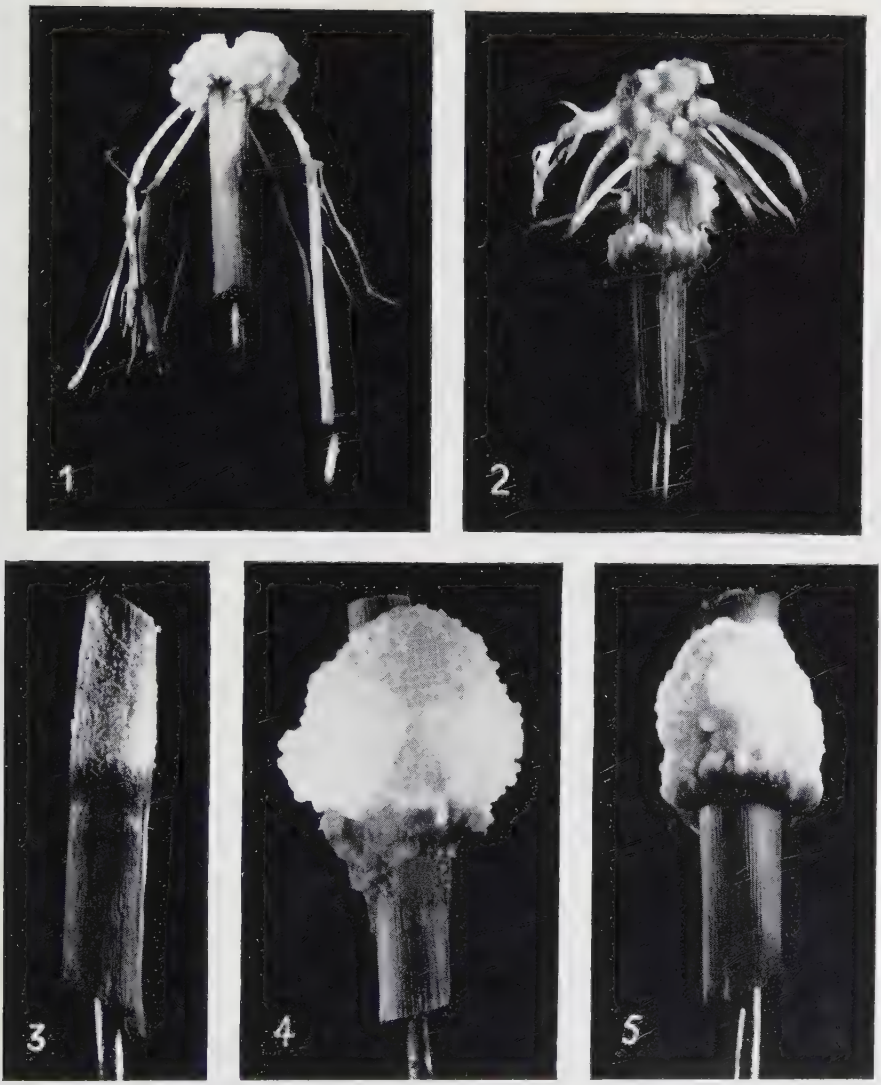
1 : dans milieu de base stérile.

2 : dans milieu de base + *Bacillus megaterium* (*B. meg.*) souche personnelle.

3 : dans milieu de base + *B. meg.* souche 5117 Inst. Pasteur.

4 : dans milieu de base + *B. meg.* souche 5260 Inst. Pasteur.

PLANCHE 4



Cultures de segments d'entre-nœuds de *Rupestris du Lot* prélevés au cours de la période de végétation :

1 et 2 : superficiellement épluchés (préparation normale des explantats) et placés dans : milieu de base (1), milieu de base + *B. meg.* (2).

3 à 5 : privés des tissus extérieurs à la zone génératrice libéro-ligneuse (*test en été*) et placés dans : milieu de base (3), milieu de base + 1 mg/l d'ANA (4), milieu de base + *B. meg.* (5).

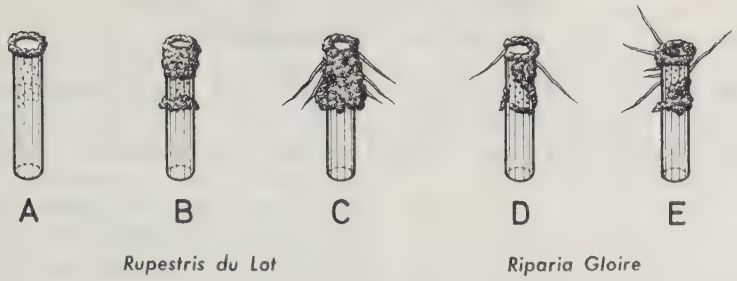


FIG. 16. — *En présence de* Bacillus megaterium, *croissance d'une culture de* Rupestris du Lot *effectuée pendant le repos végétatif (A, B et C) et aspects, après deux mois de culture, de deux explantats de* Riparia Gloire *(D et E).*

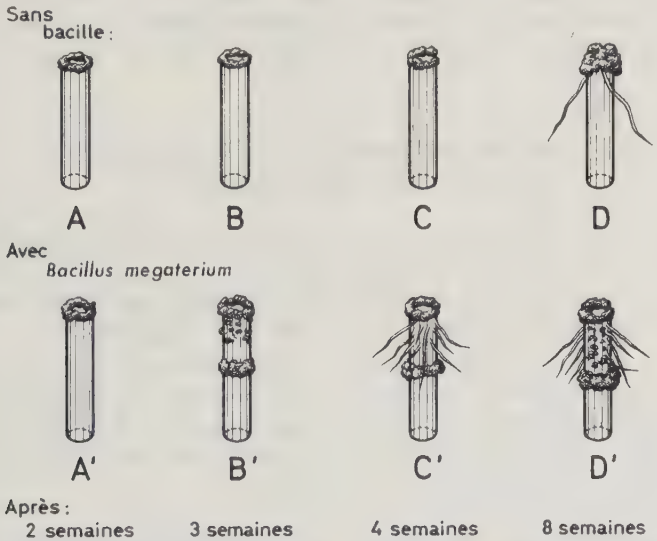


FIG. 17. — *Evolution, en présence ou non de* Bacillus megaterium, *de cultures de segments de* Rupestris du Lot *prélevés pendant la période de végétation.*

II. — Réactions, au cours de l'année, des segments de variétés du groupe *Syrah*

Ainsi que je l'ai indiqué dans la première partie de cette étude, les segments de ces variétés se caractérisent par l'aptitude à proliférer dans le milieu de base pendant l'hiver. *B. meg.*, malgré ce comportement, aurait-il une action sur de telles cultures ? Pour répondre à cette question, des explantats ont été cultivés sur le même milieu que le bacille, selon le protocole expérimental suivi pour les variétés du groupe *Rupestris du Lot.*

A. — FORMATION DE CAL EN PRESENCE DE *BACILLUS MEGATERIUM*

Chez la variété *Syrah*, *B. meg.* ne modifie pas le temps normalement nécessaire à l'apparition de cal (tableau 27).

Ce bacille ne change pas davantage les poids de matière sèche formée (tableau 27).

Par contre, chez *V. Berlandieri*, il augmente très nettement la croissance des cals (tableau 28).

Au cours de la période de végétation la plus active, *B. meg.* ne hâte pas le début de la prolifération. En septembre, octobre, par contre, il provoque une diminution marquée du temps nécessaire à l'apparition de cal (tableau 27).

De même que chez *Rupestris du Lot*, en présence de *B. meg.*, les poids de cal de *Syrah* sont plus faibles que ceux des tissus apparus dans le milieu stérile (tableau 27).

B. — FORMATION DE RACINES EN PRESENCE DE *BACILLUS MEGATERIUM* (1)

Chez *V. Berlandieri* cultivé en présence de *B. meg.*, le temps nécessaire à l'apparition des racines est long et variable.

En présence de ce bacille, plus de 40 % des segments donnent naissance à des racines, alors qu'en milieu stérile, je n'ai jamais constaté la formation de tels organes (tableau 28).

De même que chez *Rupestris du Lot*, le géotropisme de toutes les racines reste positif.

Comme pour *Rupestris du Lot*, *B. meg.* provoque, chez *V. Berlandieri*, une synchronisation de l'émission des racines.

L'apparition de racines sur les segments de *V. Berlandieri* est quasi générale. Elle est par contre fort rare en milieu de base stérile.

Ce bacille ne modifie pas le géotropisme positif des racines.

Contrairement à celles de *Rupestris du Lot*, les racines de *V. Berlandieri* traversent le voile bactérien et pénètrent ensuite dans le milieu de culture.

Quant au diamètre des racines apparues en présence de *B. meg.*, il est plus grand que chez les autres espèces et atteint parfois 1,5 mm.

---

(1) Il est aisé de bouturer la variété *Syrah* dans les conditions naturelles; je n'ai donc pas cru devoir, chez cette variété, étudier systématiquement la rhizogénèse en présence du bacille. J'ai préféré m'adresser à *V. Berlandieri*, classé dans le même groupe, car cette espèce est naturellement rebelle au bouturage. Je donnerai brièvement les résultats de cette étude qui, bien qu'incomplète, paraît intéressante à plusieurs titres.

La capacité de *B. meg.* de déterminer l'apparition de racines chez *V. Berlandieri* est d'un grand intérêt. Sont à souligner également les différentes réactions manifestées par les racines des diverses espèces au contact du bacille.

TABLEAU 24

Caractéristiques des cals néoformés par des segments de Rupestris du Lot *et de* Riparia Gloire *cultivés dans le milieu de base, en présence ou non de* Bacillus megaterium *(moyenne d'un minimum de 12 cultures par essai, E).*

Date du prélèvement	*Bacillus megaterium*	Nombre de jours nécessaire à l'apparition de cal				Poids moyen de cal sec (mg)					
		Rup. Lot		*Rip. Gloire*		*Rup. Lot*				*Rip. Gloire*	
		sans	avec	sans	avec	sans	avec			sans	avec
	Essais	E	E	E	E	E	E1	E2	E3	E	E
10 juin		8	6	8	8	55,7	24	35		28	22
10 juillet		8	7	8	7	57,1	35	21		34	22
10 août		8	8			52	29	27		38	23
20 sept.	1/3 inf. tige	20	8	19	10	46	34	25			
	1/3 sup. tige	15	8	16	10	49	18	26		—	20
10 oct.	1/3 inf. tige	—	10			0	39	36		0	25
	1/3 sup. tige	20	10			63	35	37		—	—
10 novembre		0 prolifération	25	0 prolifération	30	0 prolifération	45	51		0 prolifération	34
10 décembre			22		26		65,1	67	57		48
20 décembre			18		15		62,3	59	60		46
10 février			16		16		73,5	68	59		59
10 mars			10		10		73	78	53,5		47

TABLEAU 25

Moyennes (20 cultures) du diamètre de racines néoformées par des segments de Rupestris du Lot *cultivés :*

Série A : en milieu de base stérile, au cours de la période végétative.

Série A' : en milieu de base + B. meg., *au cours de la période végétative.*

Série B : en milieu de base + B. meg., *au cours du repos végétatif.*

Cultures	Diamètre (mm)		
	moyen	minimal	maximal
série A	1,1	0,7	1,3
série A'	0,8	0,5	1,3
série B	0,3	0,2	0,6

TABLEAU 26

Racines apparues sur des segments de Rupestris du Lot *et de* Riparia Gloire *cultivés dans le milieu de base, en présence ou non de* Bacillus megaterium.

Dans les cultures effectuées à une même époque, en l'absence de bacille, l'apparition des racines est souvent échelonnée; les temps extrêmes, seuls, sont consignés ici; ex. 30-59 *j., pour les prélèvements de juin.*

Date du prélèvement	*Bacillus megaterium*	Nombre de jours nécessaires à l'apparition de racines				% moyen d'explantats avec racines				Nombre moyen de racines par explantat			
		Rup. Lot		*Rip. Gloire*		*Rup. Lot*		*Rip. Gloire*		*Rup. Lot*		*Rip. Gloire*	
		sans	avec	sans	avec	sans	avec	sans	avec	sans	avec	sans	avec
10 juin		30-59	20-21	40	20	16	99	27	98	4,7	8	4	9
10 juillet		15-50	21	17-42	19-20	73	98	67	96	2,9	6,4	3	7
10 août		18-47	20-22	18-39	18-22					2,5	6,2	2,8	5,9
10 sept.	1/3 inf. tige	26-42	20-21			43	74	38	71	2,9	6		
	1/3 sup. tige	28-45	17-18	60	20-22	47	95	43	93	3,4	9	1	9
10 oct.	1/3 inf. tige		20				79				5,4		5,7
	1/3 sup. tige	24-40	16-22			55	91	—	—	3,1	6,5		
10 novembre			50		58		20		18		2		1
10 décembre		0 racine	48	0 racine	52	0 racine	63	0 racine	58	0 racine	6,4	0 racine	5
22 décembre			46		45		60		55		5,2		4,8
10 février			39		45		49		51		6		3
10 mars			33		37		62		59		4,5		4,3

TABLEAU 27

Caractéristiques des cals formés par des segments de Syrah *cultivés dans le milieu de base, en présence ou non de* Bacillus megaterium.

Date du prélèvement	*Bacillus megaterium*	Nombre moyen de jours nécessaire à l'apparition de cal		Poids moyen de cal sec (mg)	
		sans	avec	sans	avec
10 juin		8	7	48	26,5
10 juillet		8	6	39	29
10 août		8	7	45	33
20 septembre	1/3 inf.	21	8	40	
	1/3 sup.	15	8	42	
10 octobre	1/3 inf.	22	9	44	31
	2/3 sup.	20	10	67	35
10 novembre		22	20	61	67
10 décembre		20	21	69	65
10 janvier		21	18	56	57
10 février		15	15	58	53
10 mars		13	14	70	61

TABLEAU 28

Réactions de segments de V. Berlandieri *cultivés en présence ou non de* Bacillus megaterium.

Date du prélèvement	*Bacillus megaterium*	Nombre moyen de jours nécessaire au début prolif.		Poids moyen de cal sec (mg)		% moyen explantats avec racines	
		sans	avec	sans	avec	sans	avec
Janvier		20	19	28	65	0	41
Février		18	18	35	81	0	43
Juin		16	13	22	18	5	92

III. — Action de diverses souches de *Bacillus megaterium* et de bactéries sur les tissus de vigne prélevés pendant le repos végétatif

Il était utile de savoir si les réactions obtenues étaient propres à la souche que j'avais isolée. Aussi ai-je tenu à étudier tout d'abord deux autres souches de *B. meg.* provenant des collections de l'Institut Pasteur (n^{os} 5117 et 5260).

En présence de ces deux germes, les explantats de *Rupestris du Lot* récoltés au cours de l'hiver prolifèrent aussi. Si nous comparons les caractères des cals et des racines formés en leur présence et en présence de la souche isolée, nous constatons qu'ils sont très voisins (tableau 29 et planche 3, phot. 2, 3 et 4). La souche 5260 exerce, cependant, sur la rhizogenèse, une action plus énergique que celle des deux autres. En sa présence, j'ai noté que 75 % des segments, au lieu de 50 à 60 %, présentaient des racines ; par ailleurs, le nombre des racines par segment se montre un peu plus élevé que dans les deux autres cas.

On peut donc conclure que trois souches de *B. meg.* sont capables de provoquer la prolifération de segments de tiges de *Rupestris du Lot* et déterminent sur les explantats des réactions comparables.

TABLEAU 29

Poids moyen, en mg, de cal sec néoformé par des segments de Rupestris du Lot *cultivés au cours du repos végétatif en présence de trois souches de* Bacillus megaterium (*moyenne de 15 cultures*). *E : Essai*

	Souches	Isolée			N° 5117		N° 5260	
	Essais	E1	E2	E3	E1	E2	E1	E2
Date du prélèvement	10 décembre	65	67	57	61	52	58	54
	10 février	73,5	68	59	60	65	67	61
	10 mars	73	78	53,5	62	72	61	60

J'ai recherché ensuite si d'autres espèces de bactéries étaient pourvues du même pouvoir. Parmi celles mises en culture, les unes ont exercé sur la vigne une action positive, d'autres négative, d'autres enfin n'ont révélé aucune action.

Certaines bactéries proviennent de diverses collections : *Bacillus subtilis, B. pumilus, Azotobacter chroococcum, Pseudomonas fluorescens, Sarcina lutea* de l'Institut Pasteur de Paris, *Beijerinckia indica* (autrefois *Azotobacter indicum*) des collections des docteurs Dobereiner et Becking. Dans cette liste figurent, notamment, des représentants du genre *Bacillus* autres que *B. meg.* et deux espèces d'*Azotobacteraceae* voisines, mais présentant des capacités de synthèse différentes : *A. chroococcum* sécrète en effet de l'AIA quand elle est cultivée dans un milieu simple, tandis que *Beijerinckia indica* en est incapable (Burger et Bukatsch, 1958).

Les autres bactéries sont des souches isolées à partir d'infections accidentelles de mes cultures d'hiver de *Rupestris du Lot*. Je les ai désignées sous les noms de *H2, T. 491, J. 1087, J. 1647*...

En présence d'*A. chroococcum* et de *Beijerinckia indica*, les tissus de *Rupestris du Lot* prélevés en hiver prolifèrent. La section

proximale des segments se couvre de cal et un anneau se forme parfois un peu au-dessus du niveau du milieu, tandis que des racines apparaissent. Le poids de ce tissu néoformé et les caractéristiques des racines produites sont donnés dans le tableau 30. Contrairement à ce qui se produit avec *B. meg.*, la croissance des racines se poursuit au-delà du voile bactérien et leur diamètre est nettement plus grand (planche 5, phot. 1).

TABLEAU 30

Caractères des tissus de Rupestris du Lot *néoformés pendant l'hiver sous l'action d'*Azotobacter chroococcum *et de* Beijerinckia indica.

Milieu	Poids moyen du cal sec (mg)	Racines		
		Nombre moyen	Longueur moyenne (cm)	Diamètre moyen (mm)
Témoin milieu de base	0	0	0	0
Tém. + *A. chrooc.*	52	3,8	2,6	0,86
Tém. + *B. ind.*	49	3	2,7	0,83

En présence de *B. subtilis* et de *B. pumilus*, les segments de *Rupestris du Lot* restent inertes comme dans le milieu de base stérile. En vue de savoir si ces bactéries ont une action défavorable sur la prolifération, je les ai cultivées en présence d'explantats qui forment normalement des cals dans le milieu de base stérile (*Syrah* au cours de l'hiver). Avec *B. subtilis*, la prolifération de *Syrah* est beaucoup moins intense que dans le milieu de base (25 mg de cal sec au lieu de 69 mg), alors qu'elle est sensiblement équivalente avec *B. pumilus*.

Parmi les réactions manifestées par les segments des variétés de vigne en présence de bactéries, deux m'ont semblé plus intéressantes du fait de leur constance et de leur aspect qualitatif. Il s'agit de l'induction *in vitro*, par certaines bactéries, de la formation de cal et de la stimulation de la rhizogénèse chez *Rupestris du Lot*, pendant le repos végétatif. J'ai choisi cette réaction hivernale comme test de base, que j'ai désigné sous le nom de « test *Rupestris du Lot* en hiver ».

IV. — « Test » de l'action des bactéries, utilisable pendant la période de végétation

Ayant eu l'occasion de constater, au cours d'autres études, la non-prolifération en été de segments de *Rupestris du Lot* privés

de leur écorce (1), j'ai recherché si *B. meg.* était capable de réactiver le cambium de tels explantats. En cas de succès, on disposerait là d'un nouveau « test » utilisable pendant l'été pour étudier les sécrétions des bactéries.

A cet effet, sur des fragments de tiges prélevés en juin, juillet, août, j'ai éliminé tous les tissus extérieurs à la zone génératrice libéro-ligneuse. Une couche de quelques assises de cellules cambiales se trouve ainsi mise à nu. Les entre-nœuds sont ensuite sectionnés en segments de 2 cm, ou parfois moins. Ces derniers sont alors « ensemencés » comme précédemment.

A. — REACTIONS DES EXPLANTATS DEPOURVUS D'ECORCE EN PRESENCE DE *BACILLUS MEGATERIUM*

Le pourcentage de segments sans écorce qui prolifèrent en présence de *B. meg.* est dans l'ensemble très élevé (tableau 31), oscillant entre 98 et 100 % pendant la majeure partie de la période végétative. En octobre, ce bacille ne provoque la formation de cal que sur 45 % des explantats. Il est possible qu'à cette date, l'arrachage de l'écorce blesse davantage de cellules cambiales qu'auparavant.

TABLEAU 31

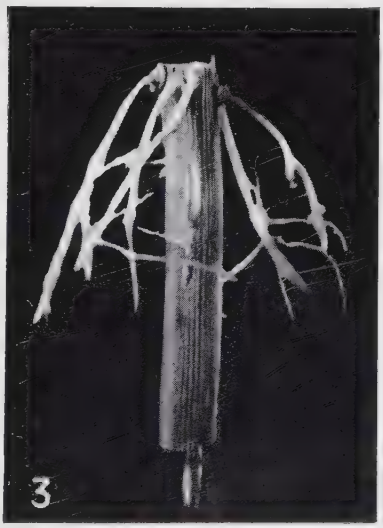
Pourcentages moyens d'explantats de Rupestris du Lot *privés des tissus extérieurs à la zone génératrice libéro-ligneuse et ayant proliféré au cours de leur culture dans le milieu de base en présence de* Bacillus megaterium *ou de diverses substances de croissance.*

Date du prélèvement	T	T + *Bacillus megaterium*	T + acide α-naphtyl-acétique mg/l			T + acide β-indolyl-acétique mg/l		
			0,01	0,1	1	0,01	0,1	1
20 mai	0	100	67	95	98	0	95	97
10 juin	0	98	82	94	95	20	93	96
20 juin	0	100	65	92	94	51	95	96
10 juillet	0	100	45	90	92			
20 septembre	0	99	0	0	95			
10 octobre	0	45	0	0	0			

Dans le cas des segments qui prolifèrent en présence de *B. meg.*, apparaît un anneau de cal un peu au-dessus du niveau du milieu. Il grossit, tandis que la prolifération gagne vers l'extré-

(1) Un fait analogue a d'ailleurs été signalé par Gautheret (1959) à propos de cultures de *Salix caprea;* cet auteur a observé que des fragments de xylème sans zone génératrice ne manifestent aucune activité ou produisent parfois de minuscules pustules ou même de simples pseudothalles.

PLANCHE 5



Cultures de segments d'entre-nœuds de *Rupestris du Lot* dans le milieu de base en présence de :

1 : *Azotobacter chroococcum*, au cours du repos végétatif.

2 : *Bacillus subtilis*, au cours de la période de végétation.

3 : « Bacille J. 1087 » (non identifié), au cours de la période de végétation.

mité supérieure de l'explantat (fig. 18 et planche 4, phot. 5). Les poids des tissus néoformés secs sont donnés dans le tableau 32. Dans le cas de ces cultures, il n'y a jamais production de racines.

Entre mai et septembre, la régularité de la réaction établie permet de l'utiliser comme « test » de l'action de *B. meg.* et je l'appellerai par la suite le « test *Rupestris du Lot* en été ».

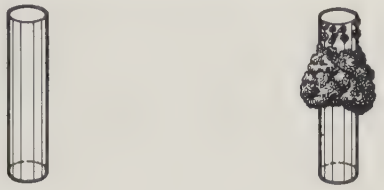


FIG. 18. — *Aspect d'explantats de* Rupestris du Lot, *dont le cambium a a été mis à nu : cultivés dans le milieu de base stérile (A) ou additionné de* Bacillus megaterium *(B).*

B. — REACTIONS DES EXPLANTATS DEPOURVUS D'ECORCE EN PRESENCE D'AUXINES

Il était important de préciser le comportement, en présence d'auxines, des explantats ainsi préparés. L'acide α-naphtylacétique a été appliqué à différentes doses au cours de la période de mai à mi-septembre (tableau 31).

— A la dose de 0,01 mg/l, l'ANA provoque les divisions cambiales d'un pourcentage variable de segments.

— Par contre, avec 0,1 mg/l, la formation de cal est générale et importante.

— A la dose de 1 mg/l, comme il ressort de la photographie 4 de la planche 4, les tissus néoformés sont volumineux ; leur

TABLEAU 32

Poids moyen des cals néoformés, en présence de Bacillus megaterium *et de 1 mg/l d'acide* α-naphtyl-acétique, *par des explantats dont le cambium a été mis à nu.*

Date du prélèvement	Poids des cals en présence de :	
	Bacillus megaterium	1 mg/l d'acide α-naphtyl-acétique
20 mai	34	
10 juin	38	66
20 juin	39	72
10 juillet	33	75
20 septembre	42	96
10 octobre	30	

poids de matière sèche est même de beaucoup supérieur à celui des cals produits en présence de *B. meg.* (tableau 32).

Les quelques essais effectués avec l'acide β-indolyl-acétique ont donné des résultats comparables à ceux obtenus avec ANA, sauf pour la dose de 0,01 mg/l; à cette dose, l'AIA s'est montré moins actif que l'ANA.

Contrairement au test *Rupestris du Lot* en hiver, le test en été s'est montré sensible aux auxines. Il en résulte que ces deux tests sont susceptibles de fournir des données complémentaires. Pour disposer d'une période plus longue d'utilisation du « test en hiver », le plus intéressant, deux solutions s'offraient à moi : ou bien essayer de provoquer artificiellement la mise en dormance des bourgeons de souches de *Rupestris du Lot* à d'autres moments que la période naturelle de repos, ou bien prolonger cette période de dormance en conservant des tiges au réfrigérateur. La deuxième solution, plus commode, a été adoptée.

C. — REACTIONS DES EXPLANTATS DEPOURVUS D'ECORCE EN PRESENCE DE BACTERIES AUTRES QUE *BACILLUS MEGATERIUM*

Sur de tels explantats, quelle est l'action des germes qui déterminent ou non la prolifération des segments du « test en hiver » ? Des explantats préparés pour le « test en été » ont donc été cultivés en présence des bactéries déjà essayées sur les tissus de *Rupestris du Lot* prélevés en hiver.

Azotobacter chroococcum et *Beijerinckia indica,* ainsi que *J. 1647,* provoquent les divisions cambiales de ces segments ; *J. 1647* se montre cependant moins actif que les deux autres germes.

Par contre, en présence de *B. subtilis* et de *B. pumilus,* il n'y a pas formation de cal. Ces espèces se révèlent donc inaptes à provoquer la prolifération dans les cas des tests en hiver et en été. Bien mieux, nous avons vu que *B. subtilis* était capable de réduire le poids des cals de *Syrah* en hiver. Pour savoir s'il en était de même en été pour *Rupestris du Lot,* j'ai cultivé, avec ce bacille, des segments de cette espèce dépourvus seulement des cellules corticales externes. La production de cal, très faible, est limitée au niveau du milieu et les racines restent toujours très courtes, inférieures à 0,2 cm (planche 5, phot. 2).

Je signalerai enfin que des explantats de *Rupestris du Lot* superficiellement « épluchés », cultivés en présence de *J. 1087,* ont fourni de longues racines sans produire de cal, ni à leur extrémité proximale, ni au niveau du voile bactérien (planche 5, phot. 3).

Les bactéries étudiées ont donc exercé la même action, positive ou nulle, sur la prolifération des segments utilisés pour les tests en hiver et en été.

Au terme de cette expérimentation, il me paraît utile de consigner dans le tableau 33 les résultats concernant l'action comparée de *Bacillus megaterium* et de l'acide α-naphtyl-acétique sur les deux tests de *Rupestris du Lot.*

TABLEAU 33

Principales réactions présentées par des explantats de Rupestris du Lot *privés de quelques couches de cellules corticales (segments* 1) *ou écorcés (segments* 2) *et cultivés en présence d'ANA* (1 *mg/l*) *et de* Bacillus megaterium.

Epoque du prélèvement			Organes néoformés	T	1 mg/l ANA	*B. meg.*
Période de repos végétatif	Nov.-mars	segments 1	cal	0	0	++
			racines	0	0	+
Période de végétation	Mai-mi-sept.	segments 1	cal	+	++	+
			racines	+	++	++
		segments 2	cal	0	++	++
	Mi-sept.-nov. (segments 1)	2/3 sup. de tige	cal	+	++	+
			racines	+	++	++
		1/3 inf. de tige	cal	0	+	+
			racines	0	+	+

Prolifération et rhizogénèse : ++ intense ; + moyenne ; 0 nulle.

***

Après avoir isolé, identifié puis étudié l'action de cette souche de *Bacillus megaterium*, supposée responsable de la prolifération hivernale de *Rupestris du Lot*, j'ai mis en expérience, de la même manière et toujours sur la vigne, d'autres souches de *Bacillus megaterium* ainsi que diverses bactéries.

Action de Bacillus megaterium *sur la callogenèse des tissus de vigne.*

J'ai montré que les segments de variétés incapables de proliférer en hiver dans le milieu de base forment des cals quand *Bacillus megaterium* est inoculé à ce milieu. La région de l'explantat située au voisinage du voile bactérien présente la prolifération la plus intense. Cette réaction qualitative est constante, de sorte que je l'ai choisie comme principal test pour la suite de ces expériences. Je l'ai désignée sous le nom de « test *Rupestris du Lot* en hiver ».

L'induction de cette prolifération n'est pas particulière à la souche isolée, puisque deux autres souches de *B. megaterium* provenant de l'Institut Pasteur déterminent les mêmes réactions.

L'action de ce bacille est par contre peu perceptible sur les segments de type *Syrah* qui prolifèrent normalement pendant le repos végétatif.

Pendant l'été, contrairement à ce qui se passe au cours de l'hiver, *B. megaterium* exerce sur la callogenèse d'explantats de *Rupestris du Lot* qui prolifèrent normalement une action défavorable. C'est à partir du mois d'octobre que disparaît cette action. Afin de disposer d'un test qualitatif de l'action de *B. megaterium*, utilisable pendant la période de végétation, j'ai fait appel à des explantats de *Rupestris du Lot* privés de leurs tissus extérieurs au cambium. J'ai nommé ce test « test *Rupestris du Lot* en été ». De tels segments forment des cals en présence de *B. megaterium*, mais aussi, et contrairement au test en hiver, en présence d'acide α-naphtyl-acétique et d'acide β-indolyl-acétique.

Quant aux autres bactéries étudiées, elles exercent des actions diverses sur les tissus de vigne : les unes, de même que *B. megaterium*, provoquent la formation de cal sur des explantats normalement inertes, d'autres se montrent indifférentes, d'autres enfin sont défavorables à la prolifération normale des segments.

Action de Bacillus megaterium *sur la rhizogenèse des tissus de vigne.*

En présence de *B. megaterium*, 50 à 60 % des explantats de *Rupestris du Lot* et 40 % des explantats de *V. Berlandieri* prélevés en hiver engendrent de nombreuses racines. L'intérêt de ces résultats apparaît quand on sait que, dans le milieu de base stérile, aucun segment de ces espèces n'en produit. Pendant l'été, ce bacille exalte considérablement la rhizogenèse.

Les racines de ces deux espèces manifestent, vis-à-vis de *B. megaterium*, des réactions différentes : celles de *Rupestris du Lot* sont incapables de franchir le voile bactérien, tandis que celles de *V. Berlandieri*, après l'avoir traversé, pénètrent dans le milieu.

D'autres bactéries, enfin, stimulent la rhizogenèse chez *Rupestris du Lot*, tout en permettant la croissance en longueur des racines.

En résumé, l'acide α-naphtyl-acétique, l'acide β-indolyl-acétique ajoutés au milieu de culture à raison de 0,01 à 1 mg/l et d'autres substances stimulantes ne peuvent induire la formation de cal et la rhizogenèse sur les segments de certaines variétés de vigne prélevés pendant le repos végétatif. Par contre, la souche de *Bacillus megaterium* que j'ai isolée, deux autres souches de la même espèce, ainsi que d'autres bactéries, sont capables de provoquer ces phénomènes.

CHAPITRE VIII

ACTION DE BACTERIES SUR DES TISSUS VEGETAUX AUTRES QUE CEUX DE LA VIGNE

Etude de la capacité de Bacillus megaterium *de déterminer la prolifération des tissus de divers végétaux. Sur l'un d'entre eux, étude de l'action d'autres bactéries.*

J'ai cherché ensuite à savoir si le pouvoir de *B. meg.* s'étendait à des tissus végétaux cultivés *in vitro* autres que ceux de vigne. A cet effet, j'ai choisi les tissus suivants : fragments de tubercule de topinambour, segments de moelle de tabac, cultures secondaires de crown-gall de scorsonère, carotte et tabac, racines de lin excisées ou non. Ces tissus présentent un certain nombre d'avantages généraux : ils se prêtent aisément à l'étude quantitative des phénomènes de croissance *in vitro;* ils sont dans l'ensemble constitués de parenchymes et les plantes dont ils proviennent appartiennent à des familles très diverses. D'autre part, les réactions de certains de ces tissus constituent des « tests biologiques » classiques.

I. — Réactions des tissus de topinambour en présence de bactéries

On sait que les tissus de topinambour de certaines variétés, prélevés sur des tubercules en repos végétatif, ne prolifèrent pas sans un apport de substance de croissance (Gautheret, 1942, Kulescha et Gautheret, 1947, Duhamet, 1949, Netien et Beauchesne, 1953, Jacquiot, 1954, Nitsch et Nitsch, 1956 b...).

J'ai utilisé dans ces essais les variétés *Blanc précoce* et *Violet de Rennes,* ainsi qu'un clone de la Haute-Vienne dont est issu le clone numéro 20 de la collection de Vilmorin.

Au cours de ces expériences, les explantats de tubercule de topinambour ont été parfois calibrés selon une technique inspirée des méthodes employées par White (1954) et Bouriquet (1952). Des cylindres de tissu sont prélevés dans les tubercules à l'aide d'un emporte-pièce (diamètre 45/10), puis tronçonnés en fragments de 1 cm de long. Suivant la durée de la conservation préalable des

tubercules, le poids de matière fraîche de tels explantats est plus ou moins important (tableau 34).

TABLEAU 34

Poids d'explantats calibrés de tubercule de topinambour en fonction de la date du prélèvement (moyenne de 20 fragments).

Date du prélèvement	Poids moyen matière fraîche (mg)
Novembre 1959	282,7
Décembre 1959	276,8
Janvier 1960	261,5
Avril 1960	242,4

A. — ACTION DE *BACILLUS MEGATERIUM*

Aucune des 190 cultures de topinambour effectuées dans les tubes sans bacille n'a proliféré (planche 6, phot. 1). Par contre, les 190 cultures ayant reçu dans le milieu un inoculat de *B. meg.* ont formé d'abondants cals (1960 a).

Dans le cas de milieux gélosés, les tissus néoformés apparaissent, après 12 jours environ, sur la partie de l'explantat la plus proche du voile bactérien. Des massifs de cellules nettement individualisés peuvent néanmoins se former à une certaine distance de part et d'autre de la région précédente (fig. 19). Mais, dans *toutes* les cultures, la prolifération résultant de l'action de *B. meg.* est caractérisée par la présence constante d'une sorte de bourrelet au niveau du milieu (planche 6, phot. 5).

Les explantats cultivés dans les milieux liquides où *B. meg.* a été inoculé forment un cal important sur toute la surface qui repose sur le support de papier filtre ; cette prolifération va en diminuant vers la partie supérieure de l'explantat (planche 6, phot. 2).

On doit donc admettre que la bactérie agit par son contact avec le tissu ou bien que, dans ce dernier, la diffusion des substances synthétisées par *B. meg.* est très lente.

Les pesées des explantats cultivés, soit en milieu stérile, soit en présence de *B. meg,* ont fourni les résultats suivants (tableau 35).

Il faut tout d'abord remarquer qu'en l'absence de toute prolifération, le poids frais des explantats cultivés en milieu témoin augmente. En présence de *Bacillus megaterium,* l'intense prolifération observée localement se traduit par une importante augmentation de poids frais, mais le poids de matière sèche ne s'accroît que relativement peu. L'apparition de racines sur les

explantats cultivés avec le bacille est peu fréquente : j'ai compté 8 % de fragments pourvus d'une racine dans le cas des milieux gélosés et 5 % dans les milieux liquides.

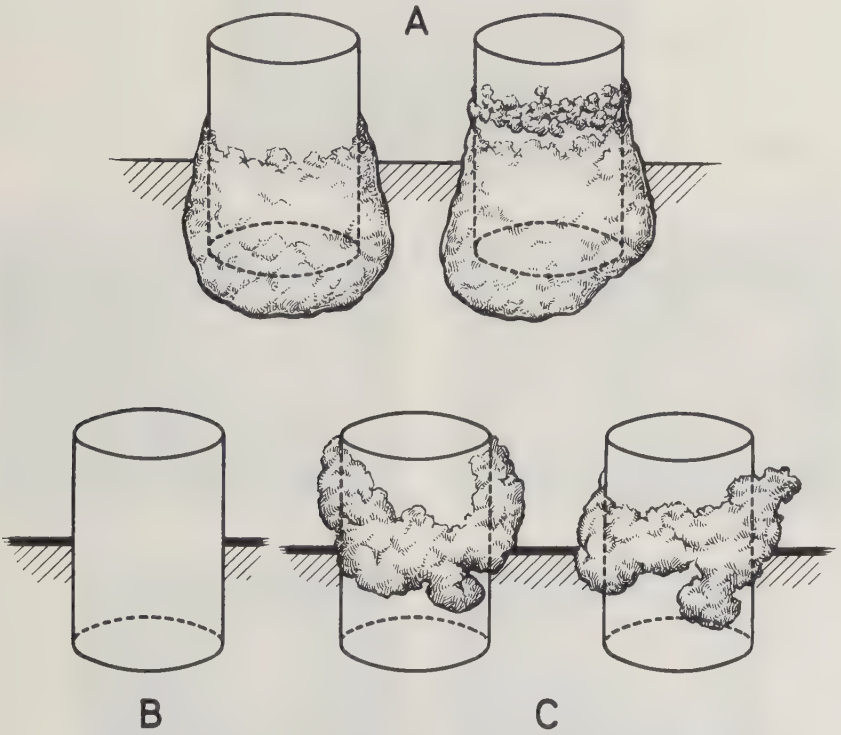


Fig. 19. — *Aspects de fragments de tubercule de topinambour cultivés dans le milieu de base, additionné de* 0,1 *mg/l d'AIA* (*A*), *ensemencé avec* Bacillus subtilis (*B*), *avec* Bacillus megaterium (*C*).

TABLEAU 35

Poids des explantats de topinambour cultivés en présence de Bacillus megaterium.

	Milieu stérile		Même milieu + *B. meg.*	
	Poids frais	Poids sec	Poids frais	Poids sec
Mil. gélosé	359 382 374	64 73 76	578 605 601	77 95 84
Mil. liquide	378 389	58 73	598 626	76 80

Une étude anatomique de cultures placées en présence de *B. megaterium* a été effectuée (fig. 20 et 21) et a fourni les résultats suivants :

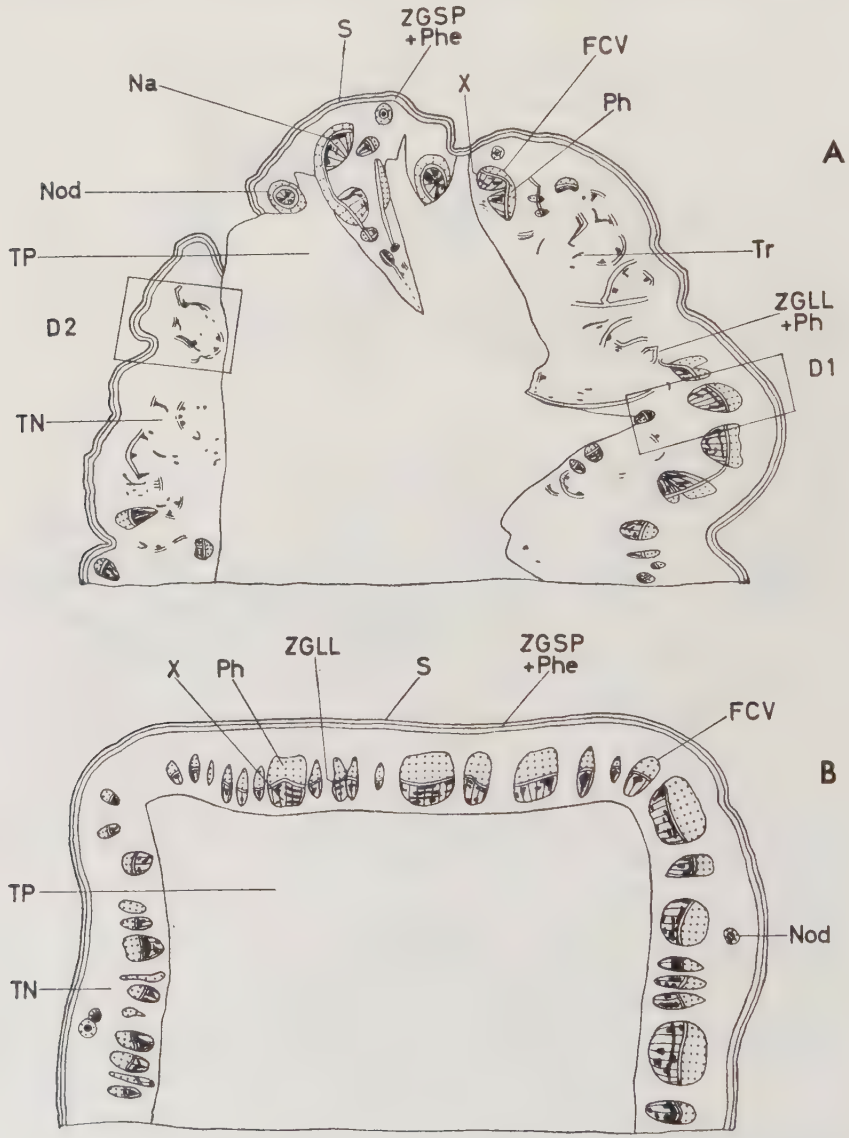
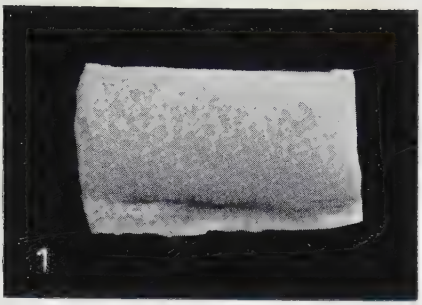
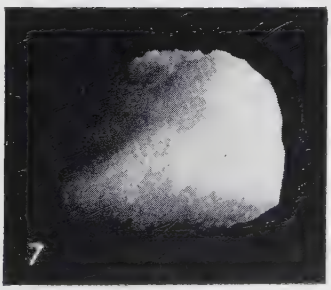


Fig. 20. — *Coupe transversale dans un fragment de tubercule de topinambour cultivé en présence de* Bacillus megaterium (*A*) *et d'*Azotobacter chroococum (*B*).

TN : tissu néoformé, TP : tissu préexistant, Nod : nodule, Na : nappe cribro-vasculaire, S : suber, ZGSP + Phe : zone génératrice subéro-phellodermique + phelloderme, FCV : faisceau cribro-vasculaire, X : xylème, Ph : phloème, Tr : trachéide, ZGLL + Ph : zone génératrice libéro-ligneuse + phloème, D1 et D2 : parties choisies pour dessins de détail.

PLANCHE 6





Cultures de fragments de tubercule de topinambour, prélevés au cours du repos végétatif :

- sur milieu de base liquide (1) ; milieu de base liquide + *B. meg.* (2) ; milieu de base liquide + filtrat concentré de milieu de culture de *B. meg.*
- dans milieu de base gélosé (4) ; milieu de base gélosé + *B. meg.* (5) ; milieu de base gélosé + extrait éthéré alcalin de filtrat de milieu de culture de *B. meg.* (6) ; milieu de base gélosé + extrait acide (7).

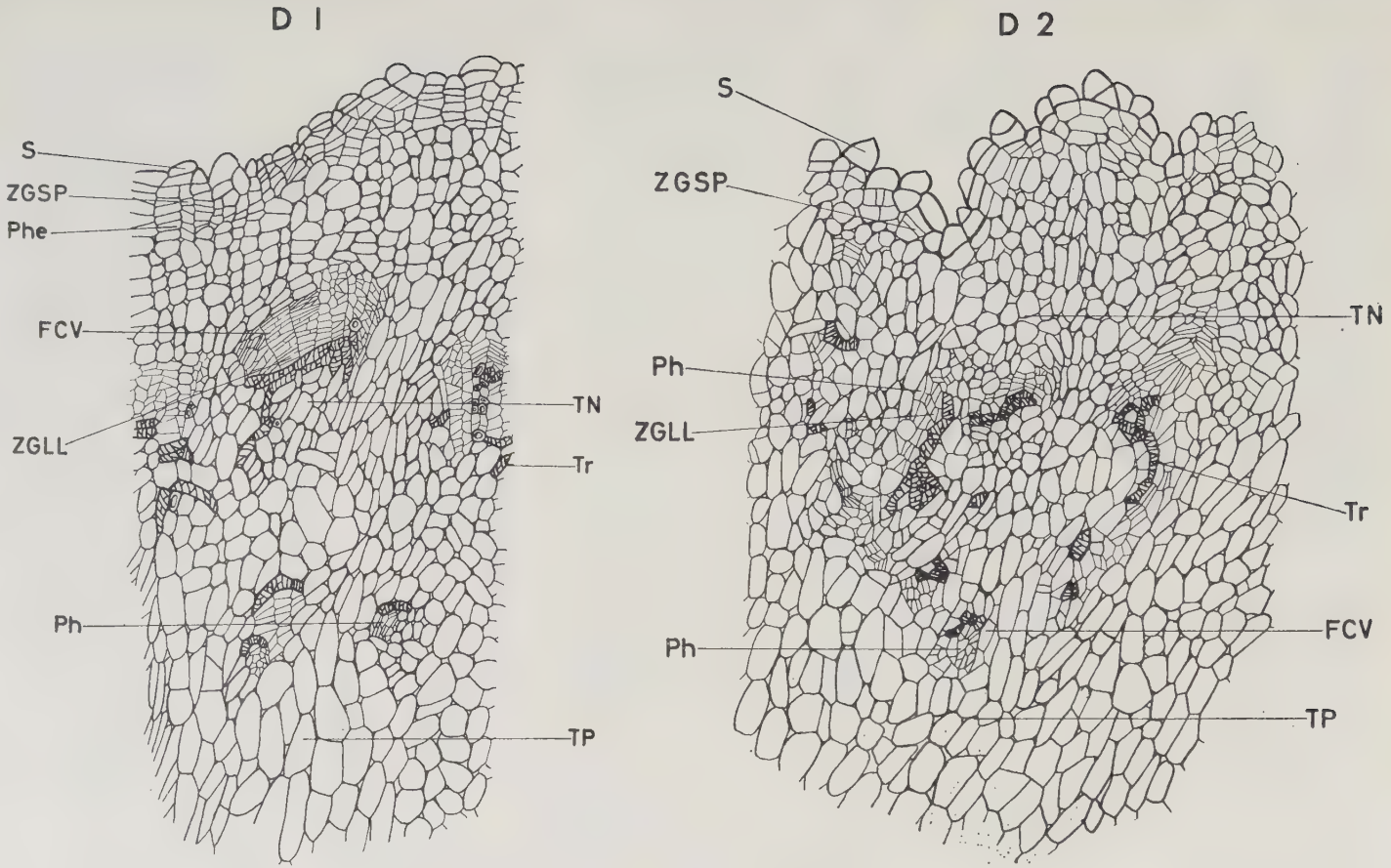


FIG. 21. — *Dessins de détail de parties (D1 et D2 de fig. 20 A) de coupe transversale dans un fragment de tubercule de topinambour cultivé en présence de* Bacillus megaterium (*même légende que fig.* 20).

— la prolifération due à *B. meg.* est très intense;

— à côté de quelques faisceaux cribro-vasculaires normaux, les tissus néoformés contiennent des faisceaux aberrants, renfermant toujours très peu de xylème lignifié;

— la disposition des faisceaux libéro-ligneux est anarchique;

— les tissus néoformés présentent de nombreuses trachéides isolées;

— vers l'extérieur des parties néoformées, se trouve un suber issu d'une zone génératrice subéro-phellodermique.

L'ensemble de ces caractères anatomiques témoigne donc d'une prolifération intense aboutissant à la néoformation d'un tissu très dédifférencié. Aucune des substances connues à ce jour ne permet d'obtenir une telle structure chez les tissus de topinambour.

Nous savons que, pour obtenir des tumeurs avec *Agrobacterium tumefaciens,* il est nécessaire d'inoculer les bactéries au cours du « conditionnement » des tissus destinés à être infectés. En était-il de même dans le cas de l'association parenchyme de topinambour-*B. meg.* ? J'ai pu établir que ce tissu prolifère en présence de *B. meg.* inoculé au milieu au moment de l'introduction des explantats ou 8 et même 30 jours après. Dans ce cas, le « conditionnement » n'est donc pas indispensable à la prolifération de tels tissus.

En résumé, *B. meg.* est capable de provoquer la prolifération des tissus de topinambour prélevés sur des tubercules en repos végétatif. La formation de cal est moins généralisée que celle résultant de l'apport de 1 mg/l d'AIA ou d'ANA au milieu de culture. La structure anarchique des tissus néoformés, très dédifférenciés, n'est comparable à aucune des structures dues à des substances connues.

B. — ACTION D'AUTRES BACTERIES

Comme précédemment pour la vigne, les tissus de topinambour réagissent différemment en présence de diverses bactéries (1960 b).

a) Action stimulante

Azotobacter chroococcum, Beijerinckia indica, T. 494, J. 1647 déterminent la prolifération, mais selon les germes, la *localisation* des cals est différente.

— Le plus souvent, après deux mois de culture, le fragment porte des massifs de tissu néoformé sur sa portion hors milieu et un cal en anneau situé juste au-dessus du voile bactérien. La prolifération gagne parfois la partie immergée de l'explantat (cas de cultures en présence d'*Azotobacter chroococcum, Beijerinckia indica, T. 494, J. 1647* et *Pseudomonas fluorescens*).

— Dans d'autres cas, le tissu néoformé apparaît seulement sur la partie hors milieu (H 2).

— Parfois enfin, un petit nombre de gros massifs bien individualisés se forment sur la portion du fragment de topinambour baignant dans le milieu (*Sarcina lutea*).

Il est intéressant de rappeler ici, à titre de comparaison, que la prolifération des explantats de topinambour cultivés en présence de AIA (1 mg/1) affecte surtout leur partie immergée dans le substrat solide (fig. 19).

Les *poids* des cultures obtenues en présence de quelques espèces sont indiqués dans le tableau 36.

Il ressort de ce tableau que les bactéries les plus actives sur la callogenèse sont par ordre décroissant : *Beijerinckia indica, Sarcina lutea, Azotobacter chroococcum* et *J. 1647*. Les deux premières espèces se montrent d'ailleurs, à ce point de vue, supérieures à *B. meg.* En outre, associés à *A. chroococcum* et *Sarcina lutea*, les fragments de topinambour produisent des racines.

TABLEAU 36

Caractéristiques des tissus de topinambour cultivés en présence de diverses bactéries.

Milieu	Poids frais (en mg)	Poids sec (en mg)	% expl. avec rac.
Mil. de base	380	66	0
Mil. de base + *A. chrooc.*	731	95	51
Mil. de base + *B. indica*	1 118	151	0
Mil. de base + *S. lutea*	690	117	23
Mil. de base + *J.* 1647	552	82	0

La *structure du cal* apparu en présence d'*A. chroococcum* est tout à fait différente de celle obtenue à l'aide de *B. meg.* Dans le parenchyme néoformé, des formations cribro-vasculaires assez régulières, indépendantes, sont disposées sur une seule couche ; leur phloème est tourné vers l'extérieur et le xylème vers l'intérieur (fig. 20 B). Cette disposition est semblable à celle qui résulte de l'action de l'AIA.

b) Action nulle

En présence de *B. subtilis* et *B. pumilus*, les explantats de tubercule de topinambour restent inertes comme dans le milieu de base stérile témoin. Un examen de coupes pratiquées dans ces tissus confirme l'absence de division cellulaire.

Les tissus internes restent fermes, non nécrosés, et les poids secs des explantats sont très voisins de ceux obtenus dans le milieu de base.

L'ensemble des résultats relatifs au tissu de topinambour permet d'affirmer que la propriété d'induire la prolifération n'est

pas limitée à *B. meg.*, que certaines bactéries possèdent même un pouvoir inducteur supérieur à celui de cette espèce et, enfin, que d'autres bactéries se montrent sans action sur un tel tissu.

II. — Réactions de la moelle de tige de tabac en présence de *Bacillus megaterium*

A l'inverse de ce qui a lieu pour les tissus de topinambour, les fragments de parenchyme médullaire de tabac ne prolifèrent pas dans un milieu renfermant de l'AIA. Dans ce cas, leurs cellules s'agrandissent considérablement sans se diviser (Skoog et Tsui, 1948, Jablonski et Skoog, 1954). La division cellulaire ne peut être provoquée qu'à l'aide de lait de coco (Mauney et coll., 1952), de kinétine + AIA (Das, Patau et Skoog, 1956)...

Après culture dans les conditions indiquées par Jablonski et Skoog (1954), les variétés *Havana Wisconsin n° 1938* et *Paraguay* de *Nicotiana Tabacum* sont utilisées. Des explantats calibrés suivant la méthode décrite pour le topinambour sont prélevés sur tiges mesurant 80 à 100 cm. Ils sont alors ensemencés, suivant la technique de Skoog et Tsui (1948), en milieux gélosés. On ajoute dans ces derniers, soit avant, soit au moment du prélèvement, de l'AIA (1 mg/l) ou de lait de coco (15 %), ou encore un inoculat de *B. meg.*

Le comportement de la moelle de tabac en présence de *B. meg* s'est montré très différent de celui du tissu de topinambour. Le bacille est en effet incapable de provoquer la moindre prolifération de ce tissu. J'ai par contre retrouvé les réactions signalées par Skoog : en présence d'AIA, apparition de cellules isolées et hypertrophiées à la base immergée des explantats et avec le lait de coco, division cellulaire.

III. — Réactions des tissus de crown-gall en présence de *Bacillus megaterium*

A l'exception des colonies de crown-gall de *Picea glauca*, les tissus ayant subi de nombreux repiquages sont à peu près insensibles aux auxines (Gautheret, 1947, 1948, de Roop, 1947 a, Morel, 1948). Ces substances provoquent en général une augmentation du poids frais qui résulte de la croissance des cellules et non de leur multiplication; l'action des auxines sur ces tissus se traduit même par une diminution du poids sec des colonies (1) (Hildebrandt et Riker, 1947, Struckmeyer, Hildebrandt et Riker, 1949).

---

(1) Dans certaines conditions bien précises, les tissus tumoraux peuvent manifester une certaine sensibilité aux auxines (Kehr et Smith, 1954, Paris et Duhamet, 1958).

Dans ces conditions, j'ai cru utile d'étudier l'action de *B. meg.* sur des tissus de crown-gall de scorsonère, de carotte et de tabac (1). Les milieux gélosés suivants ont été utilisés :

— pour la souche de scorsonère : milieu minéral Heller + vit. B 1 (1 mg/l) + glucose (5 %);

— pour la souche de carotte : milieu minéral Heller + vit. B 1 (1 mg/l) + AIA (0,03 mg/l) + glucose (3 %);

— pour la souche de tabac : milieu minéral de Knop dilué de moitié + oligo-éléments de Heller + vit. B 1 (1 mg/l + glucose (5 %).

Contrairement à ce que j'espérais obtenir, *B. meg.* s'est montré défavorable à la croissance de ces tissus tumoraux. Tandis que les tissus témoins prolifèrent normalement, la croissance de ceux qui sont placés dans les milieux inoculés est complètement arrêtée.

IV. — Réactions de racines de lin

Cette expérimentation a porté sur des racines excisées et sur des racines de plantules.

Des graines de lin (*Linum usitatissimum*), variété *Ile de France*, sont mises à germer aseptiquement. Après deux jours, les extrémités des racines (0,5 cm) sont introduites seules ou avec un inoculat de *B. meg.*, dans des erlenmeyers de 125 ml contenant 30 ml de milieu de culture (2). Les fragments de racines cultivés en présence de *Bacillus megaterium* ne se sont pas développés, alors que le 20e jour, dans les milieux sans bacilles, les racines atteignaient 11,06 cm.

Pour compléter cette expérimentation, j'ai cherché à savoir également si les racines non excisées de plantules de lin étaient aussi inhibées par *B. meg.* La culture des plantules a été réalisée, selon un procédé employé par Pochon et coll. (1958 a), en tubes de 30×3 cm. La graine est placée sur un support formé d'un petit tube étranglé vers sa partie supérieure et se trouve légèrement au-dessus du niveau du milieu. La croissance des racines et des tiges des plantules en présence de *B. meg.* est nettement inférieure à celle des plantules témoins. Il faut toutefois noter que la croissance des racines de plantules est plus importante que celle des racines excisées.

Les résultats de ces expériences, relatives à l'action de *Bacillus megaterium* sur des tissus végétaux, sont résumés dans le tableau 38.

---

(1) J'adresse ici mes remerciements à MM. Gautheret, Morel, Heller et Mlle Richez qui m'ont fourni des souches de ces tissus.

(2) Eau bidistillée, 1 000 cm³; $Ca(CO_3)_2$, 0,242 g; $MgSO_4$, 0,042; KNO_3, 0,085; KCl, 0,61; KH_2PO_4, 0,20; Tartrate ferrique, 0,0015; Aneurine, 0,0001; Saccharose, 40.

TABLEAU 37

Dimensions de plantules de lin cultivées in vitro *pendant* 45 *jours, en présence de* Bacillus megaterium

Milieu	Longueur moyenne des racines (cm)	Longueur moyenne des tiges (cm)
Témoin	28	23
Témoin + *B. meg.*	8,5	7,5

TABLEAU 38

Comportement de divers tissus en présence de Bacillus megaterium *et d'auxines*

Tissu cultivé *in vitro*	Action de *Bacillus megaterium*	Action de l'acide β-indolyl-acétique et de l'acide α-naphtyl-acétique (1 mg/l)
Rupestris du Lot, hiver	++	0
Tubercule de topinambour, hiver	+	++
Moelle de tabac	0	0
Crown-gall de scorsonère	—	0
Crown-gall de carotte	—	0
Crown-gall de tabac	—	0
Racines excisées de lin	—	
Racines de plantules de lin	—	

++ Intense action stimulante.
\+ Action stimulante.
0 Pas d'action.
— Action inhibitrice.

*
**

De cette expérimentation longue et variée, on peut retenir quelques faits importants.

Je rappellerai tout d'abord que les tissus de *Rupestris du Lot* ne prolifèrent pas en hiver, même en présence d'AIA. Ceux de topinambour restent inertes dans le milieu de base utilisé, mais donnent d'importants cals après apport d'AIA. En présence de *Bacillus megaterium*, les fragments de ces deux espèces prolifèrent abondamment. L'action de *Bacillus megaterium*, précédemment démontrée chez *Rupestris du Lot*, n'est donc pas limitée aux seuls tissus de cette espèce.

La structure anatomique des tissus de topinambour formés en présence de *Bacillus megaterium* est très particulière. La dispo-

sition anarchique des nombreux nodules et nappes cribro-vasculaires, en particulier, est tout à fait différente de celle apparue sous l'action de l'auxine.

A l'aide du « test topinambour », l'action d'autres bactéries a été étudiée. Si certaines sont sans action, d'autres ont provoqué une prolifération plus intense que *Bacillus megaterium*.

Sur les autres tissus utilisés, *Bacillus megaterium* ne présente pas d'action stimulante. La moelle de tabac reste inerte. La croissance des colonies de crown-gall de scorsonère, carotte et tabac et celle des racines excisées de lin sont arrêtées par le bacille. Dans le cas des plantules de lin, l'action de ce dernier se limite à un ralentissement de la croissance en longueur des racines et des tiges.

Il reste à savoir si le contact des tissus et du bacille est indispensable pour la prolifération ou si ce germe peut agir à distance par ses sécrétions. Ceci fera l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE IX

ACTION DE FILTRATS ET D'EXTRAITS DE MILIEUX DE CULTURE DE *BACILLUS MEGATERIUM* SUR DIVERS TISSUS

A l'aide de plusieurs techniques, est étudiée l'hypothèse de la nécessité du contact bacilles-explantat pour la prolifération de ce dernier. Les conditions de la synthèse et de l'excrétion de substances actives sur les tissus sont précisées. De plus, quelques propriétés de ces substances sont établies.

On sait que, dans le cas du crown-gall, la présence d'*Agrobacterium tumefaciens* est nécessaire à l'induction de la tumeur. Il était nécessaire ici de savoir si le contact entre *Bacillus megaterium* et le tissu de l'explantat était indispensable ou non à la prolifération. Dans ce but, plusieurs techniques ont été utilisées.

J'ai tout d'abord séparé tissus et bactéries par une membrane de collodion que ces dernières ne peuvent franchir, mais perméables aux substances qu'elles sont susceptibles de sécréter. Puis, j'ai éprouvé l'action de filtrats de cultures de *B. meg.* et de leurs extraits en les additionnant aux milieux d'ensemencement des explantats.

I. — Culture des tissus et des bactéries séparés par une membrane de collodion

La membrane de collodion, en forme de sac, a été préparée selon la technique de Borrel-Malfitano (1945) à l'aide d'un mélange d'éther (70 ml), d'alcool absolu (30 ml), de nitro-cellulose (5 g) et d'alcool à 95° (10,5 ml). C'est sur les conseils de Nysterakis que la réalisation du dispositif expérimental a été effectuée. Comme l'indique la figure 22, le sac de collodion, A, est fixé d'une manière étanche à la partie inférieure d'un cylindre en verre, B (diamètre 30 mm, longueur 160 mm). Ce dernier est maintenu par un anneau de coton dans un tube de culture, C (diamètre 50 mm, longueur 168 mm). Après montage, cet ensemble, rempli d'alcool, est stérilisé à l'autoclave. Après élimination de l'alcool, le milieu de culture est ensuite introduit aseptiquement, de façon qu'il attei-

gne le même niveau dans les deux récipients, au-dessous du cylindre, B. Dans le sac de collodion, ce milieu est gélosé à 8 % et reçoit le segment de tige de *Rupestris du Lot*, D, planté verticalement. Le milieu gélosé ou non, placé à l'extérieur du sac de collodion, est alors ensemencé avec *B. meg.*, immédiatement après la mise en place des explantats. Les cultures témoins, effectuées dans le même dispositif, ne reçoivent pas de bacilles.

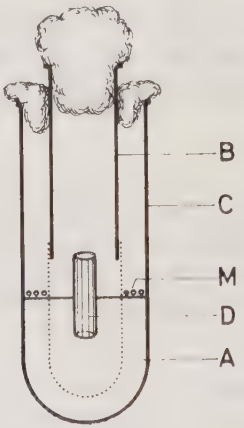


FIG. 22. — *Schéma du dispositif permettant de cultiver le bacille (M) et l'explantat (D) dans un même milieu, de part et d'autre d'une membrane de collodion (A), fixée sur un cylindre en verre (B). L'ensemble est placé dans un tube de culture (C). Technique* NYSTERAKIS.

Deux mois plus tard, les cultures témoins n'ont pas proliféré (planche 7, phot. 1). Celles inoculées dans la partie située à l'extérieur du sac de collodion ont produit un cal abondant dans la proportion de 60 % (1) (planche 7, phot. 2). Les poids des tissus néoformés sont élevés (tableau 39). Leur comparaison avec ceux

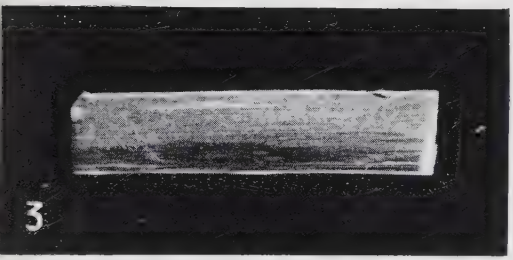
TABLEAU 39

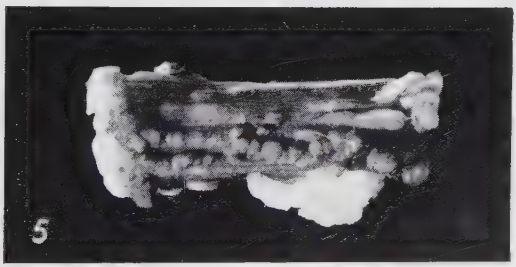
Comportement d'explantats de Rupestris du Lot *séparés de la culture de* Bacillus megaterium *par une membrane de collodion.*

Date du prélèvement	Temps nécessaire pour prolifération	% explantats avec cal	Poids cal sec (mg)	% explantats avec racines
10 décembre	24 j.	58	59	56
10 février	18 j.	63	54	52

(1) La non-généralisation de la réaction me paraît due au fait que les sécrétions du bacille, qui se développe uniquement sur le milieu situé à l'extérieur du sac de collodion, doivent traverser le milieu stérile à l'intérieur du sac pour atteindre l'explantat.

PLANCHE 7





Cultures de segments d'entre-nœuds de *Rupestris du Lot* prélevés au cours du repos végétatif :

1 : dans un sac de collodion, avec milieu de base gélosé à l'intérieur et à l'extérieur du sac.

2 : dans le même dispositif, le milieu de base à l'extérieur du sac ayant reçu *B. meg.*

3 : sur milieu de base liquide.

4 : sur même milieu + *B. meg.*

5 : sur filtrat stérile de milieu de culture de *B. meg.*

obtenus lors des expériences antérieures fait apparaître que les poids des cals sont pratiquement les mêmes lorsque les cellules bactériennes sont en contact avec l'explantat ou séparées de cette façon. J'indiquerai en outre que les pourcentages de segments pourvus de racines sont sensiblement les mêmes (tableau 39).

II. — Action de filtrats de milieux de culture de *Bacillus megaterium* sur les tissus

A. — PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Etant donnés les précédents résultats, j'ai alors envisagé d'éprouver sur les tissus l'action de filtrats acellulaires de cultures de *B. meg.*

Pour obtenir les filtrats, on ensemence dans le milieu de base, glucosé à 1,2 ou 3 %, la souche de *B. meg.* conservée sur gélose nutritive. A la fin de la phase exponentielle de croissance, on inocule 10 ml de cette suspension à 800 ml de milieu de base glucosé contenus dans des Erlenmeyers de 4 litres. Après inoculation, les cultures sont maintenues à 26° ± 1°C. Les Erlenmeyers sont agités sur un chariot animé d'une course de 9 cm, et effectuant 60 oscillations par minute ou conservés immobiles. La durée d'incubation est variable selon le but poursuivi : les cultures immobiles sont utilisées 4, 6, 8, 13 ou 20 jours après l'inoculation, les cultures agitées entre 23 et 40 heures, c'est-à-dire avant sporulation ou après (1). La courbe de croissance de *B. meg.* dans ce milieu est donnée sur la figure 23.

On élimine ensuite les bactéries par centrifugation, puis passage sur bougie Chamberland L 5. Le filtrat obtenu peut être utilisé ainsi ou après tyndallisation à 100°C durant 20 minutes, trois jours de suite, ou encore après autoclavage, pour étudier la thermostabilité des composés actifs. Le filtrat est ajusté aseptiquement à pH 6 et employé comme milieu de culture ou incorporé au milieu de base à raison de 3, 15 ou 30 ml pour 100 ml. Lorsque le milieu est concentré sous vide (à 40°C), une quantité correspondant à un litre de filtrat est ajoutée à un litre de milieu de base.

Dans le cas des milieux agités, où la croissance du bacille est rapide et importante, j'ai parfois ajouté du nitrate de sodium

---

(1) On sait en effet que la sporulation des cultures bactériennes est accompagnée de phénomènes biochimiques divers, de sorte qu'il était utile de savoir si la formation des substances actives n'était pas en relation avec ce phénomène.

Je dois d'ailleurs ajouter, à propos de la sporulation de *B. meg.*, qu'elle se montre tardive et capricieuse dans les milieux de culture immobiles utilisés. Dans les milieux agités, elle se produit, régulièrement, quelques heures après l'épuisement en un élément du milieu; dans le cas du milieu minéral Heller, c'est le nitrate qui est épuisé en premier.

et du glucose de manière à ramener leur concentration à 600 mg/l et 30 g/l.

Les filtrats sont utilisés en milieu gélosé ou liquide, ce dernier ayant souvent eu la préférence à cause de sa commodité d'emploi.

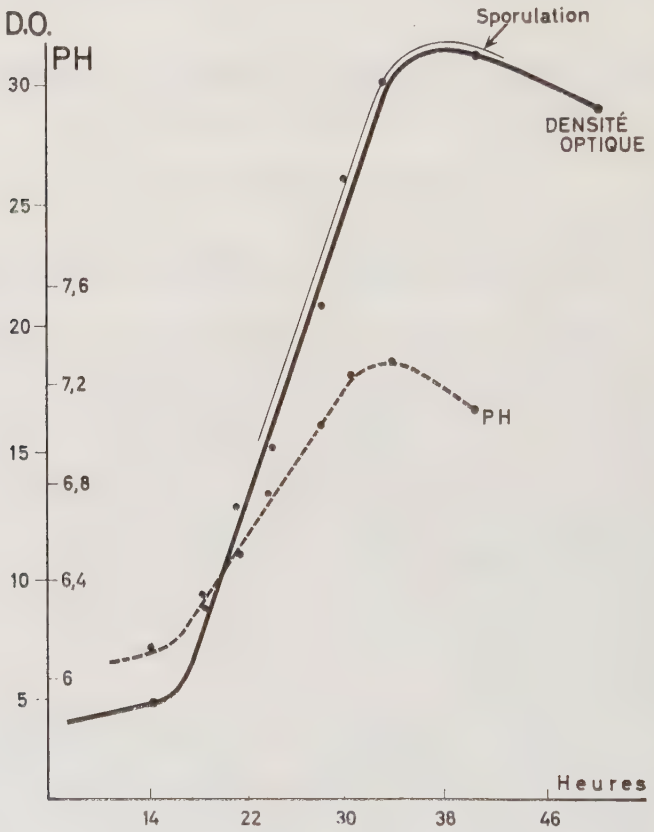


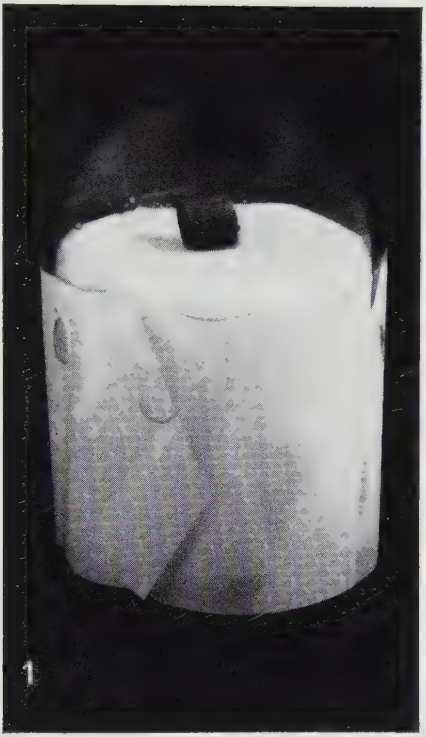
Fig. 23. — *Courbe de croissance de* Bacillus megaterium *dans le milieu de base liquide agité, avec indication de la période pendant laquelle les prélèvements ont été effectués* (=). *Variations du pH pendant la culture* (- - - -).

B. — ACTION DES FILTRATS SUR LES TISSUS DE *RUPESTRIS DU LOT*

Les filtrats ainsi obtenus ont été appliqués en premier lieu aux segments de tiges de vigne ; à cet effet, les tests *Rupestris du Lot* en hiver et en été ont été employés (tableau 40). Cette expérimentation a confirmé et complété les faits obtenus au cours de la précédente recherche.

Exception faite des filtrats des cultures immobiles utilisées du 4e ou 8e jour après l'inoculation du bacille, tous les autres filtrats ont provoqué la prolifération des tissus de *Rupestris du Lot* pré-

PLANCHE 8



Cultures de segments d'entre-nœuds de *Rupestris du Lot* (*test en été*).

1 : sur milieu de base liquide.

2 : sur filtrat stérile de milieu de culture de *B. meg.*

levés à des dates très différentes : 10 décembre et 10 février, 10 juin et 10 juillet (planche 7, phot. 5, et planche 8, phot. 2). On peut déjà déduire de ces résultats que les filtrats deviennent actifs avant l'apparition du phénomène de la sporulation.

TABLEAU 40

Comportement des explantats de Rupestris du Lot *cultivés en présence de filtrats de milieux de culture de* Bacillus megaterium.

Saison du prélèvement	Milieu de culture + filtrat provenant de	Temps moyen nécessaire à l'apparition de cal (en j.)	% moyen d'explantats avec cal	Poids moyen de cal sec (mg)
Hiver	Cult. immobile de 20 j.	20	96	
	Cult. agitée :			
	— 23 h, non sporulée	16	96	
	— 38 h, sporulée	16	97	
Eté	Cult. immobile :			
	— 4 j.	—	0	
	— 6 j.	—	0	
	— 7 j.	—	0	
	— 8 j.	—	0	
	— 13 j.	10	85	
	— 20 j. non sporulée, filtré	8	88	
	— 20 j. sporulée, filtré	8	86	
	— 20 j. sporulée, tyndallisé	8	85	
	Cult. agitée sporulée, autoclavé :			
	— dilué 1/2	8	95	68
	— non dilué	8	93	74

Les substances qui induisent la prolifération des tissus de *Rupestris du Lot* ne sont pas détruites, ni par la tyndallisation, ni par la stérilisation par autoclavage.

L'action des filtrats sur la rhizogenèse de segments de *Rupestris du Lot* prélevés au cours de la période de végétation et cultivés sur milieu solide est très marquée. A titre comparatif, j'ai réuni dans le tableau 41 les faits les plus caractéristiques concernant une série d'expériences (ici, les explantats ne sont pas préparés pour le test en été, mais simplement privés des couches corticales les plus externes). On peut ainsi constater que la rhizogenèse est générale en présence de toutes les doses de filtrat. Néan-

moins, le bacille est plus efficace que les filtrats, quant au nombre de racines produites par chaque explantat. On peut noter aussi que ce nombre diminue quand croît la dose de filtrat. En ce qui concerne la longueur des racines, elle varie peu selon les doses de filtrat utilisées et reste toujours inférieure à celle des racines apparues sur les segments cultivés dans le milieu de base.

Je dois signaler ici un phénomène qui m'a paru curieux et que je n'ai jamais constaté dans des milieux synthétiques. Quelques-uns des segments placés dans des filtrats liquides ont produit, entre eux et le support de papier filtre, des massifs cellulaires rangés en files, simulant des racines (fig. 24).

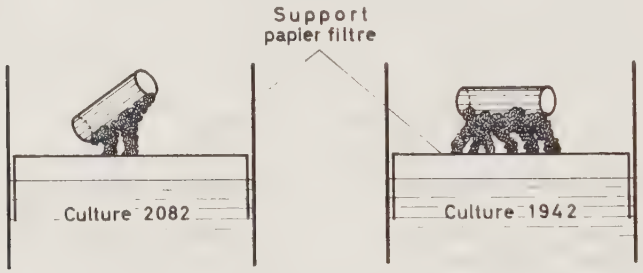


FIG. 24. — *Aspects de quelques segments de* Rupestris du Lot *cultivés sur des supports de papier filtre émergeant de filtrats de culture immobile de* Bacillus megaterium.

TABLEAU 41

Réactions de segments de Rupestris du Lot, *prélevés au cours de la période de végétation et cultivés en présence de différentes doses de filtrat de culture immobile de 20 jours de* Bacillus megaterium.

Date du prélèvement	Milieu de culture		Poids moyen du cal sec (mg)	% moyen d'explantats avec racines	Nombre moyen de racines par explantats
10 juin	T		55,7	16	4,7
	T + *B. meg.*		21 à 40	99	8
	T + filtrat (en vol.)	3/100	59	94	6
		15/100	64	92	5,2
		30/100	68,3	93	4,2

C. — ACTION DES FILTRATS SUR LES TISSUS DE TOPINAMBOUR

Après avoir constaté l'efficacité de ces filtrats sur la prolifération des tissus de *Rupestris du Lot*, j'ai étudié leur action sur les tissus de topinambour. On se souvient en effet que le bacille lui-même se montre actif sur de tels tissus.

Les explantats de topinambour, calibrés ou non, ont été cultivés dans les mêmes conditions que les segments de vigne. Le tableau 42 résume les résultats obtenus.

TABLEAU 42

Comportement d'explantats de tubercule de topinambour cultivés pendant l'hiver, en présence de filtrats de milieux de culture de Bacillus megaterium.

Explantats non calibrés

Milieu de culture	% moyen d'expl. avec cal	Temps nécessaire à l'apparition de cal (en j.)	% d'expl. avec rac.
T	0		
T + *B. meg.*	100	15	25
T + 0,01 mg/l AIA	85	9	0
T + 0,1 mg/l AIA	100	9	0
T + 1 mg/l AIA	100	7	0
Filt. cult. *immobile :*			
— 4 j. stéril. par filtration	100	13	0
— 8 j. —	94	11	0
— 20 j. —	97	11	0
— 20 j. stéril. à l'autoclave	100	11	0
Filt. cult. *agitée :*			
— non sporulée	100	11	0
— sporulée	100	11	0
— sporulée + NO_3	100	11	0

Explantats calibrés

Milieu de culture	% moyen d'expl. avec cal	Temps nécessaire à l'apparition de cal (en j.)	% d'expl. avec rac.	Poids frais	Poids sec
T	0			378,7	67
T + 0,01 mg/l AIA	0	9		369,4	70
T + 0,1 mg/l AIA	0	9		398,5	75,7
T + 1 mg/l AIA	100	7	26	855,4	151,7
Filt. cult. *agitée :*					
— non sporulée	97	»	0	464,3	101,9
— sporulée	98	»	0	544,9	128

L'action directe de *B. meg.* sur la prolifération des fragments de tissu de topinambour peut être remplacée par celle de filtrats acellulaires de milieux de culture de ce bacille (planche 6, phot. 3).

Contrairement aux tissus de vigne prélevés en hiver, ceux de topinambour sont sensibles aux filtrats de culture immobile de 4 jours. Toutefois, l'apparition de cals en présence de tels filtrats est plus tardive qu'en présence de filtrats provenant de cultures plus âgées.

Quant aux caractères morphologiques des tissus néoformés de topinambour, ils appellent les remarques suivantes. En présence de filtrats de culture immobile de 4 jours, ils sont constitués de quelques petits massifs cellulaires bien individualisés. Si le filtrat provient de cultures de 8 jours, ces massifs sont plus volumineux, mais restent séparés. En présence de filtrats de cultures âgées de 20 jours, la quasi-totalité de la face reposant sur le support est recouverte de tissus néoformés.

Dans le cas des cultures agitées de *B. meg.*, la sporulation survient à partir de 38 h environ (fig. 23). Les filtrats obtenus de cultures sporulées sont plus actifs que ceux prélevés avant sporulation. Les poids secs des cultures effectuées dans de tels filtrats sont ainsi, respectivement de 128 et 101,9 mg. Sur la phot. 3 de la planche 6, on voit ainsi que les parties des explantats placées au contact de filtrats de culture sporulée donnent naissance à des bourrelets continus et non à des massifs isolés.

De même que pour la vigne, les principes actifs ne sont pas détruits par tyndallisation ou autoclavage.

III. — Etude des extraits de filtrats de milieux de culture de *Bacillus megaterium* sur les tissus

Après avoir étudié l'action de tels filtrats sur la prolifération, j'ai préféré orienter mes recherches vers l'utilisation d'extraits de filtrats, partiellement purifés, moins riches en substances de toute nature.

Le solvant employé pour l'extraction est le plus souvent l'éther éthylique déperoxydé à l'aide de chlorure stanneux (Loiseleur, 1954); l'absence de peroxyde est contrôlée à l'aide de « test » à l'iodure de potassium (Brunel, 1949, t. I, p. 94).

Les extraits à l'éther ou au méthanol sont obtenus de la façon suivante : un litre de filtrat acellulaire de culture sporulée de *B. meg.*, ajusté à pH 6, est réduit à 30 ml par évaporation sous vide à 40°C. Ces 30 ml sont agités trois fois de suite pendant 30 minutes en présence de 40 ml de solvant. Le solvant résultant des trois extractions est rassemblé puis évaporé à sec sous vide. L'extrait est alors repris par l'eau et des parties aliquotes sont réparties dans les milieux de culture, après stérilisation par filtration ou autoclavage. Pour voir si les extractions extraînent toutes les substances actives, la « fraction aqueuse », épuisée, a été également étudiée.

Afin d'essayer de séparer les substances stimulantes contenues dans l'extrait éthéré brut, je l'ai fractionné selon le procédé de

Bennet-Clark et Kefford (1953). J'ai ainsi obtenu une fraction alcaline (F. Al) après extraction à pH 8, puis une fraction acide (F. A) après extraction à pH 3 et un résidu aqueux (R. A).

De plus, dans le cas de la fraction acide, des séparations par chromatographie sur papier (Arches n° 304 principalement) ont été effectuées. Les chromatogrammes sont découpés transversalement en bandes comprises entre les Rf 0-0,1, 0,1-0,2, etc. Après élution de chaque bande dans l'eau, les éluats sont ajoutés aux milieux de culture, contenant ou non de l'AIA, destinés à recevoir divers tissus.

Les extraits, ajustés à pH 6, sont généralement ajoutés au milieu de base de telle façon que leur dilution soit identique à celle dans le milieu de culture bactérienne au moment du prélèvement. Les milieux utilisés sont gélosés ou non.

A. — ACTION DES EXTRAITS BRUTS

Les expériences entreprises montrent que les extraits éthérés bruts de filtrats de milieu de *B. meg.* déterminent la prolifération des *fragments de tiges de* Rupestris du Lot *et de tubercules de topinambour* (tableau 43). La formation de cal est importante puisque les poids des explantats de topinambour secs, en présence des extraits, représentent plus du double de ceux des témoins (tableau 43). Ces poids sont d'ailleurs, pour les deux espèces, du même ordre que ceux obtenus en présence des filtrats. Ceci prouve donc que des substances actives sont solubles dans l'éther. Par contre, la fraction aqueuse, qui reste après l'extraction des principes actifs par l'éther, est sans action sur la prolifération des tissus de topinambour. La majeure partie des substances actives aurait ainsi été entraînée par le solvant.

Pour savoir si l'extrait brut renferme des substances de type kinétine, je l'ai ajouté à un milieu contenant déjà 1 mg/l d'AIA. J'ai alors constaté chez la *moelle de tabac* des phénomènes de croissance isodiamétrique mais non de division cellulaire. Il en est de même lorsque l'extrait est appliqué seul. Dans ce dernier cas, par exemple, j'ai observé à la base immergée des fragments une couche de 8 à 10 cellules de très grande taille : 300×290 ou même parfois 488×280 µ.

J'ai montré plus haut que, lorsque *B. meg.* et le *tissu de crown-gall de scorsonère* sont ensemencés sur le même milieu, le bacille empêche la croissance du tissu. Est-ce que des extraits à l'éther de cultures de *B. meg* exerceraient la même action sur de tels tissus ? A l'inverse des réactions précédemment observées en présence du bacille, les cultures croissent normalement dans les milieux additionnés d'extraits. On peut même déceler une légère augmentation (14 %) du poids sec de ces cultures par rapport au témoin sans extrait (tableau 44). Je n'ai, cependant, pas cru devoir poursuivre cette étude.

TABLEAU 43

Comportement des explantats de Rupestris du Lot *et de topinambour cultivés en présence d'extraits éthérés bruts de filtrats de milieux de culture* de Bacillus megaterium. *Milieu de base (T) ; Extrait éthéré (E. éth.).*

« Test » utilisé		Milieu de culture	% moyen expl. avec cal	Temps néc. à app. cal	% expl. avec rac.	Poids sec cal
Rupestris du Lot	Eté	*Liquide*				
		T	0		0	—
		T + E. éth.	82	20	—	—
	Hiver	*Gélosé*				
		T	0			
		T + E. éth. dilué 1/2	97	8	0	56
		T + E. éth.	91	8	—	53

	Milieu de culture	% moyen expl. avec cal	% moyen expl. avec rac.	Poids frais expl. + cal	Poids sec expl. + cal
Topinambour	*Liquide*				
	T	0	0	378,7	67
	T + E. éth.	98	49	707,7	137,2
	T + fract. aq.	0	—	415,2	69,1

TABLEAU 44

Action d'extrait à l'éther de filtrat de milieu de culture agité de Bacillus megaterium *sur la croissance de tissu de crown-gall de scorsonère (moyenne de 15 cultures).*

	Poids frais (mg)	Poids sec (mg)
T	2 189	209
T + E. éth.	2 556	237,5

B. — ACTION DES EXTRAITS FRACTIONNES

Dans le cas des extraits fractionnés à l'aide d'extractions à pH différents, les fractions acide et alcaline déterminent la prolifération des tissus cultivés. Par contre, comme dans le cas précédent, le résidu aqueux est inactif (tableau 45 et planche 9, phot. 2 et 3, planche 6, phot. 6 et 7).

TABLEAU 45

Action, sur les explantats de Rupestris du Lot *et de topinambour, des différentes fractions d'extraits éthérés de filtrats de culture de* Bacillus megaterium.

T : milieu de base
F.A. : fraction acide
F.Al. : fraction alcaline
R.A. : résidu aqueux

« Test » utilisé	Milieu de culture	% expl. avec cal.	% expl. avec rac.	Nb. moy. rac.	Poids cal frais	Poids cal sec
	Gélosé					
Rupestris du Lot en hiver	F.A.	98	100	3,5	—	68,5
	F.Al.	82	19	1	—	69,6
	R.A.	0	0		—	
					Poids frais (expl. + cal)	Poids sec (expl. + cal)
	Gélosé					
Topinambour	F.A.	100	15	—	437	72,1
	F.Al.	100	0	—	317,1	80,2
	R.A.	0	0	—	275,3	59,2
	T	0	0	—	221,3	51,5

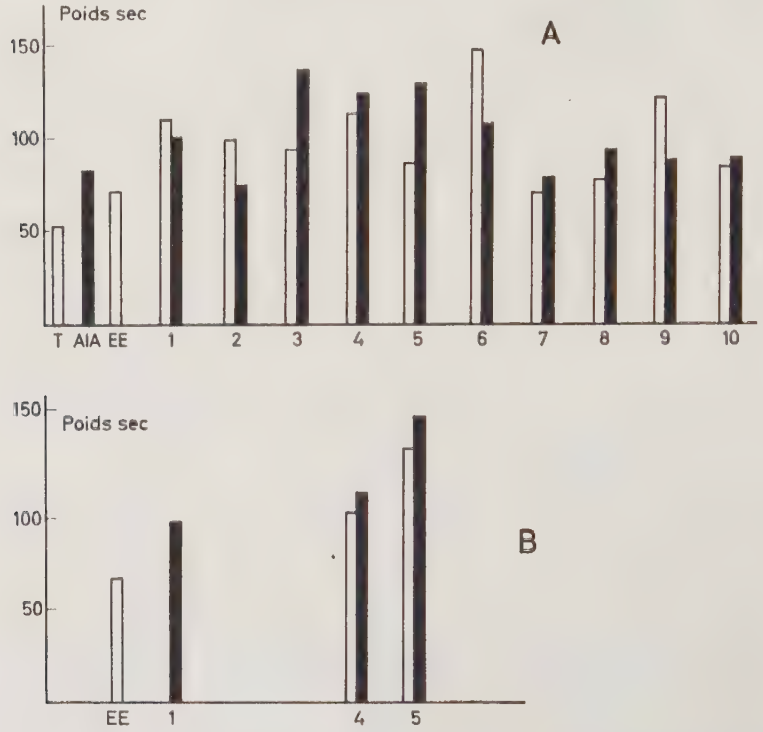
Considérons les actions comparées de ces fractions acide et alcaline sur la callogénèse. Chez la vigne (test *Rupestris du Lot* en hiver), les poids moyens des cals secs sont semblables. Chez le topinambour, le poids sec moyen des cals néoformés est plus important en présence de la fraction alcaline qu'en présence de la fraction acide.

Par contre, si l'on envisage la rhizogénèse chez les tissus de *Rupestris du Lot* prélevés en hiver, la fraction acide est cette fois beaucoup plus active que la fraction alcaline (planche 9, phot. 2 et 3). En effet, tous les explantats produisent des racines si le milieu contient la fraction acide, alors que 19 % seulement présentent de tels organes avec la fraction alcaline. D'autre part, le nombre de racines apparues sur chaque segment est plus grand dans le premier cas. Chez le tissu de topinambour, la rhizogénèse est beaucoup moins générale, mais c'est encore en présence de la fraction acide que l'on observe l'apparition des quelques racines néoformées.

C. — ACTION DES ELUATS D'EXTRAITS CHROMATOGRAPHIES

Avant d'aborder cette étude, j'ai cru utile d'étudier l'action de l'acide β-hydroxybutyrique sur la prolifération. En effet Lemoigne

(1925, 1927 et 1940) a trouvé que ce corps constituait une partie importante de la matière sèche de *B. meg.* 0,15 et 0,015 ml d'acide β-hydroxybutyrique par litre, ajoutés au milieu de base sous forme d'hydroxybutyrate de sodium, se sont montrés sans action sur les tissus de topinambour.



F,G. 25. — *A, Poids de matière sèche des explantats de topinambour cultivés dans les milieux suivants : T, milieu de base; AIA, milieu de base + 0,1 mg/l d'AIA; EE, milieu de base + extrait éthéré acide;* 1 □, *milieu de base + éluat de la bande découpée dans le chromatogramme d'extrait éthéré acide, compris entre les Rf* 0-0-1; 1 ■, *id. + 0,1 mg/l d'AIA...*

B, Poids de matière sèche des cals de Rupestris du Lot *cultivés dans les mêmes milieux. Dans le milieu de base avec ou sans AIA, ou additionné des éluats* 2, 3, 6, 7, 8, 9 *et* 10 *il n'y a pas prolifération; l'éluat* 1, *seul, est sans action, les éluats* 4 *et* 5, *seuls et combinés avec AIA sont actifs.*

L'expérimentation avec les éluats, seuls ou en présence d'AIA (0,1 ou 1 mg/l), des bandes de chromatogrammes d'extraits acides s'est avérée fructueuse. Envisageons successivement leur action sur les trois principaux tests biologiques utilisés.

En l'absence d'AIA, les éluats des bandes de Rf 0,3-0,4 et 0,4-0,5 provoquent la prolifération des tissus de *Rupestris du Lot* en hiver. Si l'on ajoute l'AIA (0,1 mg/l) en même temps que les éluats, les fractions actives sont situées entre 0-0,1, 0,3-0,4 et 0,4-0,5 (fig. 25).

Dans le cas des tissus de topinambour, la formation de cal est déclenchée par la seule action des éluats des bandes suivantes :

PLANCHE 9

Cultures de segments d'entre-nœuds de *Rupestris du Lot* prélevés au cours du repos végétatif, dans :

1 : milieu de base gélosé.

2 : milieu de base gélosé + extrait éthéré alcalin de filtrat de milieu de culture de *B. meg.*

3 : milieu de base gélosé + extrait éthéré acide de filtrat de milieu de culture de *B. meg.*

0-0,1, 0,1-0,2, 0,2-0,3, 0,3-0,4, 0,4-0,5, 0,5-0,6 et 0,8-0,9. La prolifération due à l'auxine (0,1 mg/l) est nettement stimulée par les éluats des portions comprises entre 0-0,1, 0,2-0,3, 0,3-0,4, 0,4-0,5 et 0,5-0,6 (fig. 25).

Quant aux fragments de moelle de tabac, leurs cellules se divisent en l'absence d'AIA, lorsque le milieu contient l'éluat de la bande de Rf 0,3-0,4. En présence d'AIA (1 mg/l), les substances actives sur la division sont situées dans les bandes de Rf 0,3-0,4, 0,4-0,5 et 0,7-0,8. Il en résulte que l'éluat de Rf 0,3-0,4 (actif en l'absence d'auxine) provoque la prolifération selon un processus différent de celui de la kinétine. Par contre, dans leur action sur le test tabac, les substances des éluats 0,4-0,5 et 0,7-0,8 présentent des analogies avec les kinines. Il est intéressant également d'observer la différence de comportement des tissus selon le degré de pureté des extraits. Soulignons en effet qu'en présence d'extraits bruts ou même fractionnés à l'aide d'extractions à pH différents, les cellules de moelle de tabac ne se divisent pas. Par contre, elles en sont capables en présence de certaines substances contenues dans les éluats de certaines portions de chromatogrammes.

La composition des éluats des bandes les plus intéressantes sera précisée en détail par la suite.

*
**

Des résultats obtenus au cours de ce chapitre, on peut retenir les principaux faits suivants :

1° pour provoquer la prolifération des tissus de *Rupestris du Lot* et de topinambour sous l'action de *Bacillus megaterium*, il n'est pas nécessaire que le bacille et les tissus soient en contact. Il est ainsi démontré que *Bacillus megaterium* diffuse dans le milieu où il est cultivé des substances actives sur les divisions cellulaires de ces tissus;

2° ces composés sont thermostables et solubles dans l'eau et dans l'éther;

3° les extraits à l'éther exercent une très faible action stimulante sur la croissance des colonies de crown-gall de scorsonère;

4° les mêmes extraits non fractionnés provoquent l'hypertrophie de quelques cellules superficielles de moelle de tabac;

5° des principes actifs apparaissent avant la sporulation. Il faut cependant noter que les filtrats récoltés après l'apparition de ce phénomène se montrent plus actifs;

6° grâce à des extractions à l'éther de filtrats, opérées successivement à des pH différents, il a été possible de séparer deux fractions. La fraction « acide » est active sur la formation de cal et sur la rhizogénèse. La fraction « alcaline » se montre aussi active que l'acide sur la callogénèse, mais non sur la rhizogénèse;

7° après séparation d'extraits éthérés acides par chromatographie sur papier, certaines des bandes des chromatogrammes contiennent des composés actifs sur la prolifération des tissus de *Rupestris du Lot*, de topinambour prélevés en hiver et de tabac.

CHAPITRE X

RECHERCHE DES SUBSTANCES ACTIVES PRESENTES DANS LES EXTRAITS

Des extraits de milieux de culture de B. meg. *ont été analysés afin de savoir s'ils renferment des composés tels que dérivés indoliques, substances analogues aux gibbérellines et dérivés puriques.*

I. — Méthodes

D'une manière générale, j'ai adopté la technique de séparation par chromatographie ascendante de Nitsch (1955). Les deux solvants choisis : alcool isopropylique, ammoniaque à 28 % eau (80, 0,1 et 19,9) et hexane, chloroforme, eau (75, 15, 10) sont employés séparément ou successivement (cas de la « double chromatographie » de Nitsch (1960 b).

La détection des substances a été effectuée à l'aide de réactions colorées, tests biologiques, examen des chromatogrammes sous lumière ultra-violette et spectre dans l'ultra-violet après élution.

A. — REACTIONS COLOREES

Pour les dérivés indoliques, ont été utilisés le réactif d'Ehrlich, celui de Salkowski modifié par Gordon et Weber (1951), ainsi qu'une solution de permanganate de potassium à 0,5 %.

Cette dernière donne également une réaction colorée en présence d'acide gibbérellique.

Quant aux dérivés puriques ils ont été décelés à l'aide des réactifs suivants : nitrate mercurique (Vischer et Chargaff, 1947), éosine (Michl, 1953) et permanganate de potassium en présence de chlore (Gerlach et Döring, 1955).

B. — TESTS BIOLOGIQUES

Le test « mésocotyle d'avoine » de Nitsch (1956 a) permet de révéler composés indoliques et gibbérellines appliqués à faibles doses. Bien qu'il s'agisse là d'un test d'élongation, alors que le phénomène qui m'intéresse ici est la division cellulaire, j'ai pensé

qu'il serait précieux pour moi de connaître les substances contenues dans les extraits de *B. meg* et capables de stimuler l'élongation cellulaire. Les chromatogrammes sont découpés en 20 bandes et chacune d'elles est déposée dans un tube contenant 10 segments de mésocotyle d'avoine var. *Brighton,* dont l'élongation est mesurée. A l'aide de solutions témoins contenant des doses croissantes d'AIA, il est possible d'avoir une idée approximative de la quantité d'AIA contenue dans ces extraits.

Le test « maïs nain » de Phinney (1956) est donné comme spécifique de la recherche des gibbérellines. Huit jours après le semis de graines de « Dwarf I » (1), les plantules phénotypiquement normales sont éliminées, de façon à ne conserver que les plantules naines. On dépose alors 0,1 cc de la solution à étudier, additionnée de 0,1 % de Tween 80, dans la première feuille non étalée de la plantule. Ce volume contient les substances actives présentes dans 30 ml de milieu de culture de *B. meg.* 10 jours après, la longueur des gaines des premières et deuxièmes feuilles est mesurée. Des témoins reçoivent eau ou acide gibbérellique.

C. — EXAMEN SUR PAPIER ET SPECTROPHOTOMETRIE DANS L'ULTRA-VIOLET

L'examen en UV sur papier à 254 mμ permet de déceler les dérivés puriques. Les chromatogrammes séchés sont exposés au rayonnement UV d'une lampe Mineralight. Sur un fond fluorescent, les taches correspondant aux dérivés puriques apparaissent de teinte foncée.

J'ai déterminé enfin les spectres dans l'ultra-violet d'éluats de taches ou de certaines régions de chromatogrammes.

II. — Résultats

A. — DERIVES INDOLIQUES ET COMPOSES DONT L'ACTION EST ANALOGUE A CELLE DE LA GIBBERELLINE

Rappelons tout d'abord que des auteurs russes (Smalij, 1958, Bershova, 1959 et Panossian et coll., 1963) ont recherché si *B. meg.* synthétise de l'AIA (tableau 21). Il faut préciser à ce propos que Vozniakovskaja (1963) vient d'obtenir des résultats négatifs. Ces différents travaux concernent principalement une souche très particulière : *B. meg.* var. *phosphaticum.* Quant à Montuelle (1963), il a décelé la présence de l'AIA dans le milieu de culture de *B. meg.,* mais ce milieu contenait initialement du tryptophane.

---

(1) Ces graines m'ont été remises par M. Morel à qui je présente mes vifs remerciements.

Je donnerai les résultats que j'ai obtenus à l'aide des réactions colorées de taches de chromatogrammes, des tests biologiques et de la spectrophotométrie dans l'ultra-violet.

a) Réactions colorées

Les extraits à l'éther et au méthanol chromatographiés à l'aide des solvants isopropanol, ammoniaque, eau et hexane, chloroforme, eau réagissent comme suit en présence des révélateurs utilisés.

— *Chromatographie dans le solvant isopropanol, ammoniaque, eau :*

Les extraits acides provenant de 10 à 40 ml de filtrat contiennent tous une substance dont le Rf varie entre 0,35-0,45. Après application des réactifs d'Ehrlich et de Salkowski, la tache est colorée en mauve ou rose. Ceci plaide en faveur d'un composé à noyau indolique. Le mélange d'extrait éthéré acide avec de l'AIA donne une tache unique, de même Rf, démontrant ainsi l'identité des deux corps.

Mais, dans les extraits éthérés acides, on trouve également d'autres substances colorées en rose, moins intensément que la précédente tache, par le réactif de Salkowski ; leurs Rf sont : 0,57-0,62, 0,65-0,71 et 0,78-0,82. Avec le permanganate de potassium, les deux taches précitées, ainsi que celles de Rf 0,05-0,10, 0,25-0,30, 0,35-0,40 et 0,44-0,50 se colorent en jaune.

Dans les extraits méthanoliques acides figurent quelques-unes des substances dont il vient d'être question, de Rf 0,05-0,10, 0,25-0,30, ainsi qu'une autre à Rf 0,80.

Dans la fraction alcaline, éthérée et méthanolique, le réactif de Salkowski révèle la présence de deux substances. L'une à Rf 0,76-0,85 est probablement indolique, l'autre à Rf 0,10-0,15 se colorant en jaune est sans doute de composition bien différente.

— *Chromatographie dans le solvant hexane, chloroforme, eau:*

Sur les chromatogrammes obtenus à l'aide de ce solvant, le nombre de substances ayant migré est beaucoup plus faible. Dans les extraits acides éthérés et méthanoliques, le spot de départ se colore en rose au Salkowski et une tache jaune apparaît à Rf 0,10-0,15. Dans le cas des extraits alcalins, on voit, parfois, une tache gris mauve à Rf 0,65-0,75.

b) Tests biologiques

Le « test » mésocotyle d'avoine a permis de montrer que tous les composés colorés au Salkowski ne sont pas actifs sur l'élongation cellulaire.

La fraction acide, chromatographiée avec l'isopropanol, ammoniaque, eau contient surtout deux corps dont les Rf sont les

TABLEAU 46

Caractéristiques de diverses substances contenues dans les extraits de filtrats de Bacillus megaterium *et séparées par chromatographie dans deux solvants (I = isopropanol, ammoniaque, eau — 80, 0,1, 19,9. H = hexane, chloroforme, eau — 75, 15, 10).*

Solvant	Composé ou extrait	Rf	Réactions colorées			« Test mésocotyle »	
			Salkowski	Ehrlich	$KMnO_4$	Rf des zones actives et Rf correspondant aux max. d'élongation ( )	Dose AIA γ/1 néc. pour même élongat.
I	AIA	0,35-0,45	rose	mauve	jaune		
H	AIA	0					
I	AIB	0,45-0,52	crème	bleu	jaune		
H	AIB	0		violet			
I	Ester	0,80-0,85	mauve	gris-bleu	—		
	éthylique	0,77-0,86					
H	de l'AIA						
I	Ac. gibb.	0,50-0,55	—	—	—		
I	Kinétine	0,70-0,72	—	—	—		
		0,05-0,10			jaune		
		0,20					
		0,25-0,30			jaune		
		0,35-0,40	rose	mauve	jaune	0,30-0,40 (0,35-0,40)	21
I		0,44-0,50			jaune	0,45-0,50	50
		0,57-0,62	rose	mauve	jaune		
		0,65-0,71	rose	mauve	jaune		
		0,78-0,82	rose	mauve			
		0,85					
		0,90					
H	Extrait éthéré acide	0 -0,05			jaune	0 -0,05	30
		0,10-0,15			jaune	0,10-0,15	9

TABLEAU 46 (*suite*)

Solvant	Composé ou extrait	Rf	Réactions colorées			« Test mésocotyle »	
			Salkowski	Ehrlich	$KMnO_4$	Rf des zones actives et Rf correspondant aux max. d'élongation ( )	Dose AIA γ/1 néc. pour même élongat.
I	Extrait éthéré alcalin	0,10-0,15 0,76-0,85	jaune violet brun	0 0	— —	0,80-0,85	45
H		0 -0,05 0,65-0,75	gris- mauve		— —	0 -0,05 0,65-0,75	2 57
I	Extrait méthanolique acide	0-0,05 0,10 0,25-0,30 0,35-0,40 0,49-0,53 0,80-0,88	violet rose brun gris	 mauve	 jaune jaune — — —	0-0,05 0,25-0,40 (0,30-0,35) 0,45-0,50 0,55-0,60	 15 12
H		0-0,05 0,10-0,15	rose jaune		jaune	0-0,10	32
I	Extrait méthanolique alcalin	0,10 0,76-0,80	jaune		—	0,75-0,90 (0,80-0,85)	45
H		0,70-0,75	gris-mauve		—	0,70-0,75	50

suivants : 0,30-0,40, 0,45-0,50. Toutefois, au cours de certaines répétitions, les taches de Rf 0,55-0,60 et 0,65-0,70 se sont montrées faiblement actives. Dans le cas de la chromatographie dans l'hexane, l'activité est localisée dans les bandes à Rf 0-0,10 et 0,10-0,15.

Quant à la fraction alcaline, elle ne contient vraisemblablement qu'une substance d'élongation, mais en quantité importante. Chromatographiée dans l'isopropanol, son Rf est compris entre 0,75 et 0,90, le centre de la tache étant entre 0,80 et 0,85. Dans le cas de l'hexane, elle migre un peu moins : Rf 0,65-0,75.

Le résidu aqueux ne contient pas de substances stimulant l'élongation des mésocotyles.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 46 et la figure 26. Il est à noter que l'activité de chaque substance décelée est inférieure à celle de 57 γ AIA/l et celle de l'AIA ne dépasse pas 26 γ/l.

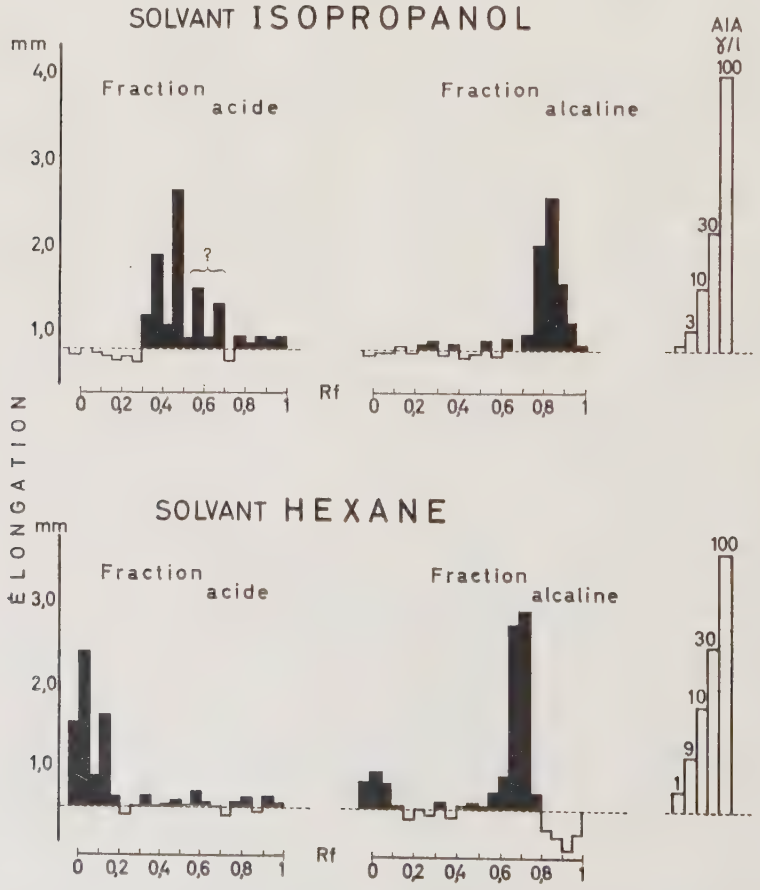


FIG. 26. — *Action, sur l'élongation des mésocotyles d'avoine, des substances contenues dans les bandes de chromatogrammes d'extraits éthérés de milieux de culture de* Bacillus megaterium (*méthode* NITSCH).

L'acide gibbérellique possède, dans le solvant isopropanol, ammoniaque, eau, un Rf de 0,50-0,55 et il est révélé en jaune par le permanganate de potassium. Or, les chromatogrammes de la fraction acide présentent des taches jaunes après pulvérisation de ce réactif et en particulier une tache très importante à Rf 0,44-0,50. Si l'on ajoute que ce composé est très actif sur l'élongation du mésocotyle, sensible aussi aux gibbérellines, on en déduit qu'il est nécessaire de reprendre cette recherche à l'aide du test « maïs nain » de PHINNEY.

Des extraits éthérés de milieu de culture de *B. meg.*, l'éluat d'une tache de Rf 0,44-0,50 et l'éluat d'une tache d'acide gibbérellique ont été ainsi analysés. A titre indicatif, j'ai groupé dans le tableau 47 quelques-unes des valeurs obtenues. Comme il ressort du tableau, l'emploi de ce test m'a permis d'écarter le doute apparu au cours de l'expérimentation antérieure : la tache suspecte n'est pas un composé analogue à la gibbérelline.

TABLEAU 47

Effet de l'acide gibbérellique et d'extraits de filtrats de Bacillus megaterium *sur l'allongement des gaines de plantules de maïs* Dwarf 1.

Traitements	Somme des longueurs : 1re gaine + 2e gaine (en cm)
Eau	2,43
Ac. gibb. 20 γ/plantule	8,18
Ext. éthéré, fraction alcaline	2,88
Ext. éthéré, fraction acide	2,74
Eau	2,64
Ac. gibb. chromatographié et élué, env. 10 γ/plantule	6,28
Composé de fraction acide (Rf 0,44-0,50)	2,69

c) Spectrophotométrie dans l'ultra-violet

Pour compléter les données précédentes, j'ai effectué des déterminations spectrophotométriques. Elles ont permis d'établir que :

— la tache de l'extrait acide à l'éther et au méthanol, dont le Rf dans l'isopropanol est 0,30-0,40, donne un spectre semblable à celui de l'AIA;

— la tache de l'extrait alcalin, dont le Rf est 0,80-0,85 dans l'isopropanol, possède un spectre présentant des analogies avec celui d'un ester de l'AIA, mais il en diffère cependant légèrement par la présence d'un point d'inflexion supplémentaire à 269 mμ, dû peut être à une impureté;

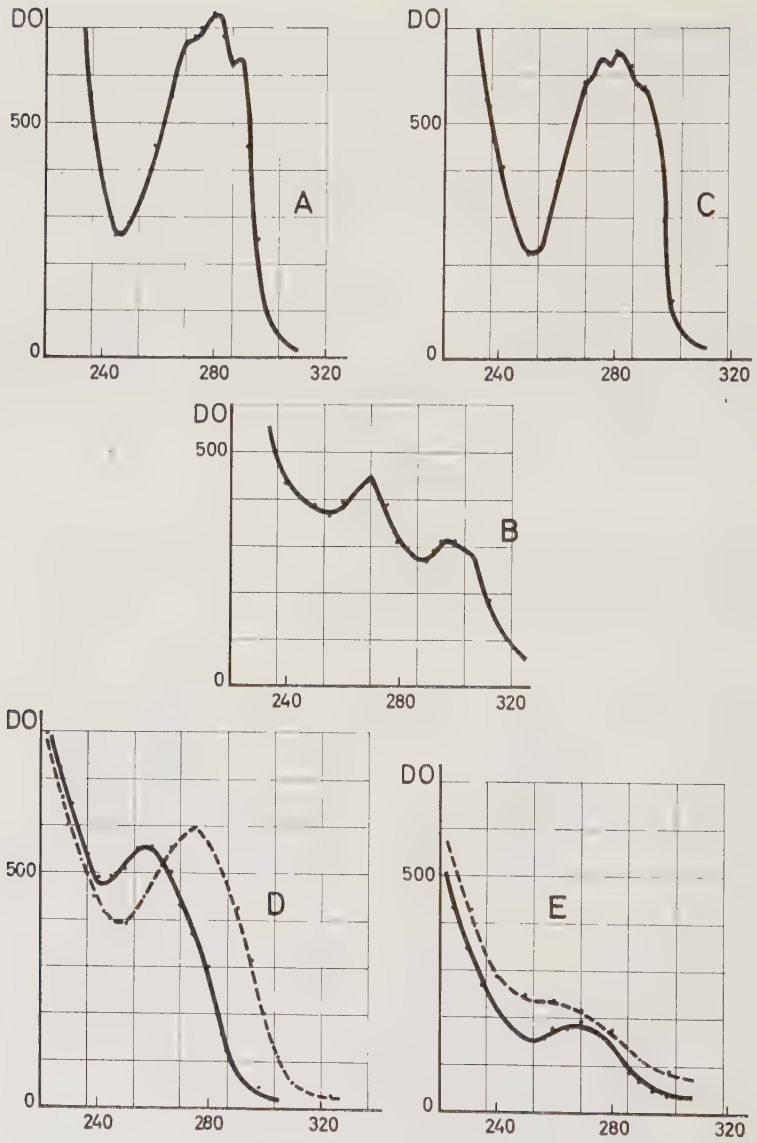


Fig. 27. — *Spectres UV de quelques substances contenues dans les extraits éthérés de milieux de culture de* Bacillus megaterium *et présentant des caractères de dérivés indoliques (A, B et C) ou puriques (D et E).*

A : éluat dans HCl N/1 000 de tache Rf 0,35-0,40 *de l'extrait acide.*

B : éluat dans HCl N/1 000 de tache Rf 0,65-0,70 *de l'extrait acide.*

C : éluat dans NaOH N/100 000 de tache Rf 0,85 *de l'extrait alcalin.*

D : éluat dans HCl N/10 — et NaOH N/100 --- de tache Rf 0,44-0,50 *de l'extrait acide.*

E : éluat dans HCl N/10 — et NaOH N/100 --- de tache Rf 0,26-0,31 *de l'extrait acide.*

En ordonnées, DO = densité optique; en abscisse, graduations en mμ.

— le spectre de la tache de la fraction acide présentant un Rf de 0,65-0,70 dans l'isopropanol laisse supposer qu'il ne s'agit pas d'un dérivé indolique (maxima d'absorption à 271 et 296 mμ).

La figure 27 donne les spectres les plus caractéristiques.

B. — DERIVES PURIQUES

Nous savons que certaines substances dérivées des bases puriques sont actives sur la division cellulaire (chap. I). Or, ayant déterminé la courbe d'absorption de l'extrait éthéré acide du milieu de culture de *B. meg.*, un maximum est apparu aux environs de 260 mμ et un minimum aux environs de 240 mμ. La présence de composés dérivés des acides nucléiques était ainsi suggérée et il devenait nécessaire d'approfondir cette question.

Des chromatogrammes obtenus à l'aide de l'isopropanol ont été révélés par réactions colorées, par examen sur papier en lumière ultra-violette et élution de taches suivie de spectrophotométrie dans l'ultra-violet.

D'après les colorations obtenues, le composé de Rf 0,05-0,10 serait une base purique, alors que les deux autres (Rf 0,26-0,31 et 0,44-0,50) seraient des dérivés puriques (tableau 48).

Sous rayonnement UV (254 mμ), plusieurs taches de teinte foncée sont apparues aux Rf 0,05-0,10, 0,26-0,31 et 0,44-0,50. Dans les mêmes conditions, l'adénine, l'adénosine et la kinétine présentent respectivement les Rf suivants : 0,42-0,44, 0,35-0,36 et 0,70-0,72.

TABLEAU 48

Caractéristiques de composés présentant une absorption à 254 mμ

Rf des taches absorbant à 254 mμ	Réaction colorée			Spectre d'absorption			
				dans HCl N/10		dans NaOH N/100	
	$Hg(NO_3)_2$	Eosine	$KMnO_4$ + Cl	Max. (mμ)	Min. (mμ)	Max. (mμ)	Min. (mμ)
1 0,05-0,10	+	+	+				
2 0,26-0,31	0	+	+	270	252	—	—
3 0,44-0,50	0	+	+	258	242	273	250
Adénine 0,42-0,44	+	+	+	263	229	269	237
Adénosine 0,35-0,36	0	—	+	257	230	—	—

Les spectres UV des substances contenues dans les éluats de taches décelées en lumière UV à 254 mμ ont été effectués dans HCl N/10 et NaOH N/100. Le composé de Rf 0,44-0,50 présente le spectre typique des dérivés des acides nucléiques. Par contre, le composé de Rf 0,26-0,31 ne fournit pas un spectre caractéris-

tique (tableau 48 et fig. 27). Nous savons que la technique de chromatographie sur papier ne permet pas toujours d'obtenir avec certitude des substances pures, en raison de séparations parfois imparfaites.

***

Il est, je crois, utile de récapituler les réactions des divers tests biologiques utilisés, ainsi que les précisions obtenues sur les substances renfermées dans les extraits acides chromatographiés dans l'isopropanol, ammoniaque, eau (tableau 49). A l'aide de ces éléments, je ferai ressortir les faits les plus caractéristiques, *sans négliger cependant les flagrantes contradictions, qui apparaissent,* souvent d'ailleurs, *lorsque sont comparés les résultats de plusieurs tests ou techniques.*

Les substances de Rf 0-0,10, appliquées seules aux tissus de topinambour, provoquent leur prolifération. En combinaison avec AIA, elles déterminent également celle des explantats de *Rupestris du Lot.* Les réactions de coloration, des mésocotyles et l'examen à 254 mμ établissent que ces composés ne sont pas indoliques; ils plaident en faveur de substances de type purines. La moelle de tabac, cependant, ne réagit pas en leur présence; il est possible qu'elles soient mal séparées et se comportent vis-à-vis de ce tissu comme l'extrait total, qui, contrairement à certains de ses constituants, est inactif.

Un autre groupe de composés mérite attention, ceux possédant un Rf de 0,30-0,40. Comme les précédents, ils sont actifs, seuls ou en combinaison avec AIA, sur le test topinambour. Mais, fait plus important, ils exercent une action positive sur les tissus de *Rupestris du Lot* et de tabac. En leur présence, ces tissus, insensibles aux auxines seules, prolifèrent, que l'on ajoute *ou non* de l'AIA aux milieux de culture. Dans le cas de ces éluats, les réactions de coloration et d'élongation des mésocotyles indiquent seulement la présence d'AIA à faible dose. D'autres composés que l'AIA doivent donc intervenir seuls ou en combinaison avec l'AIA.

Des substances fort intéressantes migrent un peu plus loin que les précédentes au cours de la chromatographie (Rf 0,40-0,50). *Seules* ou en présence d'AIA, elles déterminent la prolifération des explantats de *Rupestris du Lot* et celle des tissus de topinambour. La réaction positive de la moelle de tabac à ces composés ajoutés à l'AIA, la révélation par les réactifs colorés ou l'absorption à 254 mμ et le spectre UV de l'un d'eux indiquent que l'éluat de la bande en question contient des dérivés puriques. Il faut noter, par ailleurs, que ces composés sont actifs sur l'élongation des mésocotyles.

Précisons en outre que l'éluat de la bande comprise entre les Rf 0,50-0,60 est actif sur les tissus de topinambour, stimule l'élongation des mésocotyles, mais ne provoque pas la prolifération des segments de *Rupestris du Lot.* Ajoutées à ces réponses, les réactions de coloration obtenues donnent à penser qu'il s'agit là d'un composé indolique.

TABLEAU 49

Action et caractéristiques de composés décelés dans les extraits acides de milieu de culture de Bacillus megaterium *chromatographiés dans le solvant isopropanol, ammoniaque, eau.*
Les Rf de certaines substances sont précisés. Réaction positive (+). Réaction nulle (—).

Rf	TESTS BIOLOGIQUES							REACTIONS DE COLORATION				Absorption à 254 mμ	Spectre UV analogue à celui de	Nature probable des composés
	Rhapestris du Lot		Topinambour		Moelle de tabac		Mésocotyle	Sakowski	Eosine	$Hg(NO_3)_2$	$KMnO_4$ — Cl			
	sans AIA	avec AIA	sans AIA	avec AIA	sans AIA	avec AIA								
0-0,10	—	+	+	+	—	—	—	—	+ 0,05-0,1	+ 0,05-0,1	+ 0,05-0,1	+ 0,05-01	?	Certains caractères de dérivé purique
0,10-0,20	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,20-0,30	—	—	+	+	—	—	—	—	+ 0,26-0,31	—	+ 0,25-0,30	+ 0,25-0,30	?	—
0,30-0,40	+	+	+	+	+	+	+ 0,35-0,40	+	—	—	—	—	AIA	AIA
0,40-0,50	+	+	+	+	—	+	+ 0,45-0,50	—	+ 0,44-0,50	—	— 0,44-0,50	— 0,44-0,50	Dérivé purique	Dérivé purique
0,50-0,60	—	—	+	+	—	—	+ 0,55-0,60	+ 0,57-0,62	—	—	+ 0,57-0,62	—	—	Certains caractères de dérivé indolique
0,60-0,70	—	—	—	—	—	—	+ 0,65-0,70	+ 0,65-0,71	—	—	+ 0,65-0,71	—	Composé non indolique	—
0,70-0,80	—	—	—	—	—	+	—	+ 0,78-0,82	—	—	—	—	—	—
0,80-0,90	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,90-1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Les données ainsi réunies montrent que, dans une telle étude, il est indispensable de recourir à plusieurs tests biologiques et qu'il est nécessaire de procéder à des séparations plus complètes. Elles soulignent aussi tout l'intérêt que présente la détermination des composés sécrétés par des bactéries banales.

DISCUSSION DES RESULTATS

APPLICATIONS POSSIBLES

Les résultats de cette étude nous conduisent à discuter et commenter les trois points suivants :

1° *dans quelle mesure les données obtenues sur la prolifération de tissus en présence ou non de microorganismes viennent-elles à l'appui des théories actuelles concernant le fonctionnement du cambium ?*

2° *quel est le rôle des bactéries sur la division cellulaire ?*

3° *quelles applications pratiques peuvent découler de ces résultats ?*

I. — Facteurs de l'activation du cambium

Doit-on penser, avec certains auteurs, que l'activité du cambium des tiges dépend directement de celle des bourgeons ? Ou, avec d'autres, que ce tissu possède une certaine autonomie ?

Les études entreprises à l'aide de cultures *in vitro* portent le plus souvent sur des espèces appartenant à des genres divers. Morel (1948), cependant, a utilisé des tissus d'espèces et de variétés de *Vitis* et *Parthenocissus*. Il a obtenu des cals pendant la période de végétation, mais non pendant la période de repos. Il était donc tout à fait fondé à conclure à l'existence d'une corrélation entre l'activité de la plante et celle du cambium *in vitro*.

M'étant proposé d'entreprendre l'étude de l'activité cambiale, au moyen de cultures aseptiques, je me suis volontairement limité aux espèces et variétés du genre *Vitis*.

J'ai commencé par préciser, à Toulouse et tout au long de l'année, les réactions des bourgeons axillaires de boutures de variétés choisies. Ceci m'a conduit à établir trois faits. Dès le mois de décembre, les bourgeons ne sont plus en état de dormance. En automne, la levée de leur dormance ne peut être obtenue par la seule action des températures constantes de 1 ou 10 °C. Par contre, la « rindite », appliquée pour la première fois à des bourgeons de vigne, provoque à la même époque un raccourcissement important de la durée de leur dormance.

L'étude proprement dite de la prolifération *in vitro* du méristème secondaire de vigne a été ensuite abordée. J'ai pu montrer que les potentialités de division du cambium des segments prélevés au cours de la croissance active sont grandes et qualitativement identiques, chez les diverses vignes étudiées. Elles sont, par contre,

très variables dans le cas du méristème secondaire des explantats récoltés au cours du repos végétatif.

Dans la mesure où le comportement *in vitro* du cambium des explantats de vigne nous éclaire sur l'activité ou les aptitudes de ce dernier dans la plante, la conclusion suivante peut être tirée. Dans la région de Toulouse, le cycle végétatif de toutes les vignes étudiées est sensiblement le même. Pourtant, *in vitro,* le cambium des tiges de toutes les vignes ne réagit pas de la même façon au cours de l'*année. Il est apte à se diviser en toute saison chez certaines variétés; chez d'autres, il ne présente pas de divisions à certaines périodes.* Ainsi, la portée de la relation généralement admise entre activité des méristèmes primaires et secondaires de vignes se trouve singulièrement diminuée. Des faits complémentaires appuient largement les conclusions ci-dessus. Ils sont tirés d'observations sur des segments et boutures prélevés à divers niveaux d'une même tige, avant ou après la croissance active des vignes et soumis à des conditions externes variées.

L'ensemble de ces résultats est néanmoins insuffisant pour élucider un autre problème, soulevé au cours de cette étude : celui de l'existence d'une dormance propre du cambium de certaines variétés. Si l'on considère comme valables les arguments avancés par divers auteurs pour caractériser une dormance cambiale, les réactions des explantats de la vigne nous autorisent à classer leurs méristèmes secondaires en trois catégories.

Première catégorie dont le représentant est *Syrah.* Au cours de l'hiver et en présence de sels minéraux et de glucose, un tel cambium entre en division. La capacité de prolifération ne serait pas tributaire de l'activité du méristème primaire et le cambium jouirait d'une certaine autonomie.

Deuxième catégorie représentée par *Chasselas de Moissac.* Au cours du repos végétatif de cette variété, son cambium ne se divise pas *in vitro,* mais l'addition d'AIA provoque sa prolifération. Or, parmi les substances engendrées par l'apex, l'AIA est précisément celle dont l'action sur le méristème secondaire est le plus souvent reconnue. Il en résulte que, contrairement au cas précédent, la prolifération d'un tel cambium pourrait être sous la dépendance de l'activité du méristème primaire.

Troisième catégorie représentée par *Rupestris du Lot.* Pendant le repos végétatif, le cambium ne se divise pas et ni l'auxine appliquée à des doses allant jusqu'à 1 mg/l, ni d'autres composés, trouvés ou supposés être synthétisés dans l'apex, ne déclenchent sa division *in vitro.* Ce méristème pourrait donc être considéré comme ayant une dormance propre.

Si cette dernière existe effectivement, elle doit toutefois être distincte de celle signalée par Gouwentak chez *Fraxinus.* Ici, un prétraitement à la rindite, efficace pour lever la dormance des bourgeons de boutures de vignes, ne provoque pas, *in vitro* et en présence d'auxine, la prolifération des segments d'entre-nœuds prélevés sur de telles boutures.

En outre, si ce cambium a réellement une dormance propre, on est en droit de penser que le méristème primaire en activité ne doit pas entraîner nécessairement la levée d'une telle dormance. Pour m'en assurer, des segments de *Rupestris du Lot* pourvus d'un bourgeon prélevés pendant le repos végétatif ont été cultivés dans le milieu de base sans auxine. Dans de telles conditions, les bourgeons se mettent à croître, provoquant ainsi la prolifération du méristème secondaire et infirmant l'hypothèse précédente relative à la dormance propre du cambium.

Enfin, qualifier de dormant, comme le font certains auteurs, un méristème secondaire du seul fait de son insensibilité à l'auxine me paraît insuffisamment fondé. J'ai montré en effet que celui de *Rupestris du Lot* est insensible à l'AIA appliqué à des doses allant jusqu'à 1 mg/l; il se divise par contre en présence de composés engendrés par un seul bourgeon en croissance et aussi en présence des sécrétions de bactéries telles que *Bacillus megaterium*, incapable de synthétiser, dans le milieu utilisé, plus de 57 γ d'AIA/l. Il découle également de ces résultats que, dans la classification précédente des méristèmes secondaires en trois catégories, le cambium de *Rupestris du Lot* peut très bien être ramené de la catégorie 3 à la catégorie 2.

Ainsi, selon que nous raisonnons à partir du comportement de divers *Vitis*, en hiver ou en été, en présence de AIA ou de bourgeon en croissance, nous pouvons considérer qu'un même méristème secondaire possède un comportement autonome, ou alors que son activité dépend de celle du méristème primaire...

Tout ceci incite, je crois, à la prudence lorsque l'on cherche à établir des relations directes entre l'activité des méristèmes et à qualifier les méristèmes secondaires des végétaux de : passifs, à dormance propre... Il faut reconnaître également qu'aucune des deux théories énoncées à ce propos n'est capable de rendre compte de la totalité des faits constatés au cours de cette étude.

Il est cependant possible d'affirmer que le méristème secondaire de vigne ne présente pas de dormance propre, telle qu'elle a été définie par certains auteurs chez d'autres espèces.

II. — Rôle de diverses bactéries sur la division cellulaire

Depuis fort longtemps, nous savons que des bactéries, des champignons, des parasites animaux sont capables de provoquer *in situ* des hypertrophies ou des divisions cellulaires. La prolifération *in vitro* de tissus végétaux renfermant des bactéries ou ayant subi l'action de tels germes est connue depuis les recherches sur *Agrobacterium tumefaciens*. Par contre, au moment où fut commencée cette étude, les bactéries banales, pathogènes ou non, infectant les milieux de culture de tissus végétaux étaient considérées comme des hôtes indésirables.

Dans une première série d'expériences, j'ai pu montrer que diverses souches de *Bacillus megaterium*, cultivées dans le milieu de base à côté des explantats de *Rupestris du Lot* prélevés aseptiquement pendant l'hiver, provoquent leur prolifération. Ces germes induisent également la rhizogénèse à des degrés, il est vrai, différents, suivant l'espèce ou la variété de vigne utilisée, suivant encore le moment du prélèvement des segments d'une même variété.

D'autres bactéries telles que *A. chroococcum, Beijerinckia indica, Sarcina lutea*... sont capables de provoquer des effets comparables sur les mêmes tissus de vigne. Il faut remarquer ici que l'une, au moins, *B. indica*, est connue pour son inaptitude à synthétiser de l'acide β-indolyl-acétique.

D'autres recherches m'ont permis d'établir que le cambium et le phloème de vigne ne sont pas les seuls tissus sensibles aux actions bactériennes. Ces germes sont en effet capables de provoquer la division d'autres types de tissus, tels que le parenchyme vasculaire de tubercule de topinambour prélevé en hiver.

En possession de ces résultats, j'ai jugé utile d'étudier le rôle possible de *Bacillus megaterium* sur des tissus insensibles aux auxines, autres que ceux de *Rupestris du Lot*. J'ai choisi la moelle de tabac et les cultures secondaires de diverses souches de crown-gall. Les réactions de la moelle de tabac cultivée sur le même substratum que *Bacillus megaterium* se sont montrées initialement décevantes : aucune prolifération n'a pu être constatée. Par la suite, cependant, le comportement de ce tissu en présence de certains composés synthétisés par le bacille s'est avéré d'un intérêt tout à fait particulier, susceptible de susciter de nouvelles et utiles recherches. Quant à l'action de ce bacille sur la croissance *in vitro* des tissus de crown-gall de scorsonère, de carotte et de tabac, elle s'est montrée nettement préjudiciable.

Dans le cas du crown-gall, les chercheurs ont montré depuis longtemps que le contact tissu-bactérie était nécessaire à la réalisation de la tumeur. On sait, en outre, que l'inoculation doit avoir lieu pendant la phase de « conditionnement » qui dure moins de 90 heures. Dans le cas de *Bacillus megaterium*, l'inoculation peut être effectuée très longtemps après l'ensemencement *in vitro* des explantats de topinambour par exemple (30 jours) ; il ne semble donc pas exister ici de période de conditionnement, comme pour *Agrobacterium tumefaciens*. Il était indispensable néanmoins de savoir si le contact tissu-*B. megaterium* ne constituait pas une nécessité absolue pour le déclenchement de la prolifération. J'ai démontré à l'aide de plusieurs techniques que le bacille est capable d'induire la prolifération à distance, qu'il synthétise des composés actifs à faible dose, thermostables, diffusibles dans la gélose, solubles dans l'eau et dans d'autres solvants.

Une étude plus poussée de ces sécrétions à l'aide de la technique de chromatographie et de divers tests biologiques m'a permis de préciser, sinon la nature chimique des substances actives, du moins un certain nombre de leurs propriétés.

Je ne reviendrai pas ici sur le fait que les extraits acides ou alcalins, qui provoquent la formation de cals sur les segments du test *Rupestris du Lot* en hiver, contiennent de très faibles quantités de composés indoliques et en particulier de l'acide β-indolylacétique (quantité inférieure à 57 γ/l). Il a été dit plus haut que ce composé appliqué à raison de 1 mg/l est sans action sur de tels tissus. Ceci implique que les substances actives sont différentes des auxines connues. Si besoin était, on en aurait une autre preuve dans les modifications histologiques provoquées par *B. meg.* chez les tissus néoformés de topinambour; elles sont en effet très différentes de celles déterminées par les auxines et les autres composés connus.

Je crois par contre utile d'insister sur un ensemble d'autres faits encore plus intéressants.

A l'aide de plusieurs réactions de coloration et d'examen en lumière ultra-violette, j'ai prouvé qu'un composé des extraits acides de *B. meg.* est très certainement un dérivé purique. Or, cette substance seule provoque la prolifération des explantats de *Rupestris du Lot.* Combinée avec AIA, elle détermine également les divisions de la moelle de tabac, se comportant ainsi comme une kinine. Ce composé se révèle être d'un intérêt certain.

Il n'est pas possible de se prononcer avec autant de netteté sur une autre substance de l'extrait acide, mais elle mérite cependant attention, car elle détermine la prolifération de *Rupestris du Lot,* cette fois en présence d'AIA. Cette nouvelle substance présente également quelques caractères de dérivés puriques; néanmoins, contrairement à la précédente, elle est inactive sur la moelle de tabac.

Des dérivés puriques se trouvent ainsi impliqués dans l'action de *Bacillus megaterium* sur la prolifération des tissus végétaux et les déterminer avec précision constituera mon premier objectif.

III. — Applications possibles des résultats obtenus

L'extension de ces recherches devrait aboutir à des résultats d'ordre pratique. Elle devrait aussi permettre d'expliquer certaines anomalies bien connues des spécialistes de la multiplication végétative des plantes ligneuses.

Pour la multiplication de la vigne, beaucoup de pépiniéristes utilisent le procédé du « greffage sur table ». Les greffes-boutures sont mises à stratifier en chambre chaude et humide en vue de provoquer la formation des tissus de soudure. Le volume de ces derniers varie selon les espèces ou variétés des individus associés, selon leur richesse en matières de réserve... Indépendamment de ce dernier facteur, la capacité de callogénèse des greffes-boutures dépendrait également de l'année... Une autre observation, due à Julliard (communication personnelle) paraît à première vue encore plus difficile à expliquer. En effet, il arrive que, dans deux

caisses de greffes-boutures aussi semblables que possible placées côte à côte en chambre chaude, apparaissent des cals plus volumineux dans l'une que dans l'autre. Les résultats obtenus à l'aide de diverses bactéries dans l'étude de la prolifération *in vitro* de tissus végétaux me conduisent à formuler l'hypothèse suivante. Dans la sciure humide maintenue à 25 °C, le développement microbien est très intense; divers germes s'y multiplient, les uns favorables à la callogénèse, les autres non. Etant donnée l'existence d'antagonismes, des équilibres différents doivent s'établir suivant les caisses. Dans certaines, la callogénèse pourrait être stimulée, dans d'autres freinée. Ainsi s'expliqueraient les différences observées par Julliard dans l'émission de cal de greffes-boutures. On pourrait dans ce cas, espérer contrôler la formation de cal à l'aide d'ensemencements microbiens massifs de la sciure, avant la mise en chambre chaude (1).

Une autre application éventuelle de ces résultats pourrait intéresser la cicatrisation des plaies dues ou non au greffage. Des bactéries et surtout certaines de leurs sécrétions se montreraient peut-être plus efficaces et plus maniables que les produits dont nous disposons actuellement.

D'un grand intérêt seraient également les applications possibles des résultats de ces recherches dans le domaine du bouturage. Il est bien connu que les pourcentages de reprise dans les pépinières viticoles varient considérablement d'une année à l'autre. Cette inconstance est attribuée le plus souvent aux variations annuelles du climat, à la teneur en matières de réserve des boutures... L'espoir de régulariser l'émission de racines par l'emploi de substances de croissance telles que l'acide β-indolyl-acétique ou l'acide β-indolyl-isobutyrique a été déçu dans de nombreux cas, par l'irrégularité des résultats obtenus.

A mon avis, il paraît bon de prendre en considération l'action possible du développement privilégié de certaines bactéries dans le sol où s'effectue l'enracinement. J'ai rapporté précédemment, en effet, que *Bacillus megaterium* induisait pendant l'hiver la formation de racines chez *Rupestris du Lot* et stimulait considérablement, pendant l'été, la rhizogénèse de cette espèce. Chez les explantats de *V. Berlandieri*, non utilisé dans la pratique viticole en raison de sa très mauvaise aptitude au bouturage, j'ai pu obtenir *in vitro*, à l'aide de *Bacillus megaterium* et en toute saison, une émission de racines.

Il serait ainsi très intéressant d'étudier l'action de ce bacille, ainsi que celle d'autres germes, sur des variétés à bouturage difficile utilisées par les pépiniéristes (porte-greffes 41 B, 110 R...). On pourrait même envisager une « bactérisation » des boutures. J'aborde une expérimentation dans cette voie.

---

(1) Dans le même ordre d'idées, on peut se demander si les bactéries du sol placées dans le voisinage de la greffe (cas du greffage sur place) n'interviendraient pas dans la formation des cals...

CONCLUSIONS GENERALES

Au terme de cette étude, relative à l'action de bactéries et de bourgeons sur la prolifération *in vitro* de certains tissus végétaux, peuvent être tirées les conclusions générales suivantes.

1° Les possibilités de prolifération ne sont pas identiques pour le méristème secondaire de toutes les variétés de vigne. En effet, le cambium de certaines espèces et variétés (*Syrah*) conserve toute l'année le pouvoir de se diviser *in vitro* dans un milieu minéral glucosé. Les méristèmes secondaires d'autres *Vitis* perdent cette propriété durant le repos végétatif : certains exigent alors une auxine pour proliférer (*Chasselas de Moissac*), d'autres restent inaptes à la division, même en présence des substances de croissance synthétiques actuellement connues (*Rupestris du Lot*).

2° Pour étudier les rapports entre méristèmes primaires et secondaires, le comportement des méristèmes primaires dans la région de Toulouse a été précisé et plus spécialement celui des méristèmes axillaires :

a) les périodes de la dormance des bourgeons ont été déterminées;

b) une corrélation entre la dormance des bourgeons et l'aoûtement des segments qui les portent a été établie pendant la période comprise d'août à octobre;

c) les températures constantes de 1° ou 10° ne permettent pas de lever la dormance des bourgeons tandis qu'un traitement à la « rindite » entraîne la réduction, dans de fortes proportions, du temps nécessaire à l'entrée en croissance des bourgeons.

3° Contrairement à ce qu'on pensait jusqu'alors pour la vigne, l'activité cambiale *in vitro* est possible en dehors de la période de fonctionnement des méristèmes primaires. Chez *Syrah* en effet, il y a prolifération pendant la période de repos; son méristème secondaire n'est donc pas un tissu passif dont l'activité dépendrait obligatoirement de celle des méristèmes primaires. Il ressort également des résultats obtenus que l'inertie *in vitro* du cambium d'une tige affecte d'abord la base de cette dernière, avant l'arrêt de la croissance en longueur, puis gagne progressivement la partie apicale.

4° Différents moyens ont été mis en œuvre pour provoquer la prolifération du cambium prélevé pendant l'hiver et demeurant inerte *in vitro* :

— un pré-traitement des tiges à la rindite (active sur la dormance des bourgeons) ne permet pas, en présence d'auxine, la réactivation cambiale *in vitro* des segments de *Rupestris du Lot;*

— par contre, les substances issues d'un bourgeon en croissance conservé sur le fragment expérimenté, ou encore celles provenant d'une colonie de *Bacillus megaterium,* sont capables de déterminer la prolifération cambiale.

5° *Bacillus megaterium, Beijerinckia indica, Azotobacter chroococcum, Sarcina lutea,* possèdent le pouvoir de provoquer les divisions cellulaires de tissus végétaux cultivés *in vitro* (tige de *Vitis* et tubercule de topinambour). Cette action se traduit par l'induction de la callogenèse et la stimulation de la rhizogénèse. Toutefois, la croissance de certains autres tissus tels que diverses souches de crown-gall n'est pas augmentée ou se trouve même inhibée par ces bactéries.

6° D'autres bactéries se sont montrées sans action sur la division cellulaire de tissus de vigne et de topinambour (*Bacillus pumilus*) ou même inhibitrices (*Bacillus subtilis*).

7° Il est établi que *Bacillus megaterium* agit sur la division cellulaire des tissus de vigne, de topinambour et de tabac par l'intermédiaire de substances libérées dans le milieu de culture, dès la phase de croissance. Dans les filtrats de culture acellulaires, j'ai décelé, outre des substances indoliques, des composés actifs présentant des caractères de dérivés puriques et d'autres non identifiés.

8° Ces résultats laissent espérer des applications pratiques, concernant en particulier le greffage et le bouturage des plantes.

Ainsi, dans le genre *Vitis*, le méristème secondaire de certaines espèces et variétés prolifère *in vitro* toute l'année. Ce méristème n'est donc pas exclusivement tributaire de l'activité des méristèmes primaires. Le cambium d'autres espèces ne se divise pas en culture aseptique effectuée au cours du repos végétatif; mais diverses bactéries sont capables d'induire, par leurs sécrétions, la prolifération de ce tissu et du parenchyme de tubercule de topinambour. La haute activité des composés élaborés par les bactéries dépasse celle d'autres substances stimulantes connues.

BIBLIOGRAPHIE

Alexander D. McE. et Woodham R. C. — 1962. Premature bursting of Sultana buds. *Nature,* **194**, 206-207.

Allary S. — 1961. Evolution des inhibiteurs et des stimulateurs au cours de la dormance hivernale du chêne. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **7**, 75,

Alleweldt G. — 1959. Das vegetative Wachstum Ijähriger Reben in Abhängigkeit von der Tageslänge. *Vitis,* **2**, 101-102.

Alleweldt G. — 1960 a. Untersuchungen über den Austrieb der Winterknospen von Reben. *Vitis,* **2**, 134-152.

Alleweldt G. — 1960 b. Aufhebung der Knospenruhe von Reben durch Rindite. *Experientia,* **16**, 153-156.

Alleweldt G. — 1961. Untersuchungen über die Kausalität zwischen Gibberellin Behandlung und Austriebshemmung bei Reben. *Vitis,* **2**, 266-282.

Alleweldt G. et Radler F. — 1962. Interrelationship between photoperiodic behavior of grapes and growth of plant tissue cultures. *Plant Physiol.,* **37**, 376-379.

Antcliff A. J. et May P. — 1961. Dormancy and bud burst in Sultana vines. *Vitis,* **3**, 1-14.

Antcliff A. J. et Webster W. J. — 1955. Studies on the Sultana vine. II. The course of bud burst. *Aust. J. agric. Res.*, **6**, 713-724.

Antcliff A. J., Webster W. J. et May P. — 1955. Studies on the Sultana vine. III. Pruning experiments with constant number of buds per vine, number and length of cane varied inversely. *Aust. J. agric. Res.*, **6**, 823-832.

Avery G. S., Burkholder P. R. et Creighton H. B. — 1937. Production and distribution of growth hormone in shoots of *Aesculus* and *Malus,* and its probable role in stimulating cambial activity. *Amer. J. Bot.*, **24**, 51-58.

Aymard J. — 1904. *Les anesthésiques et le forçage des plantes.* Montpellier.

Baggiolini M. — 1952. Les stades repères dans le développement annuel de la Vigne et leur utilisation pratique. *Rev. rom. Agric. Vitic.*, **8**, 4-6.

Barbier R. — 1952. Note sur un essai de préculture des plants de pomme de terre. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **38**, 726-728.

Barbier R. — 1954. Préculture et culture dérobée des pommes de terre. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **40**, 79-84.

Barnoud F. — 1956. Sur la culture du tissu cambial de *Carpinus, Betulus L., Populus Tremula L. et Quercus sessiliflora Sue. C. R. Acad. Sci. Paris,* **242**, 1508-1509.

Beauchesne G. — 1961. Recherches sur les substances de croissance du Maïs immature. *Rev. gén. Bot.*, **68**, 493-580.

Beauchesne G. et Goutarel R. — 1963. Activité de certaines purines substituées sur le développement des cultures de tissus de moelle de Tabac en présence d'acide indolylacétique. *Physiol. Plant.*, **16**, 630-635.

Benecke et Jost L. — 1923. *Pflanzenphysiologie.* Berlin. *In* Camus, 1949.

Beltra R. — 1959. El acido beta-indolacetico y los tumores vegetales de origen bacteriano. *Revista latinoamericana de Microbiologia,* **2**, 23-31.

Bender E. et Brucker W. — 1956. Studien zur zellfreien Tumorübertrangung an Pflanzen I. *Z. Bot.*, **44**, 531-542.

Bender E. et Brucker W. — 1958. Studien zur zellfreier Tumorerzengung an Pflanzen II. *Z. Bot.*, **46**, 121-124.

Bender E. et Brucker W. — 1959. Weitere Versuche zur zellfreien Tumorerzengung an Pflanzen III. *Z. Bot.*, **47**, 258-271.

Bennet-Clark T. A. et Kefford N. P. — 1953. Chromatography of the growth substances in plant extracts. *Nature*, **171**, 645-647.

Bennett J. P. et Skoog F. — 1938. Preliminary experiments on the relation of growth-promoting substances to the rest period in fruit trees. *Plant. Physiol.*, **13**, 219-225.

Berducou J. — 1950. Différence de sensibilité de *Nectria galligena* et de *Nectria cinnabarina* à l'action de l'acide indol-β-acétique. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **231**, 367-369.

Berducou J. — 1958. Le cuivre agent indirect d'inactivation de l'auxine dans le métabolisme de *Nectria galligena*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **247**, 344-46.

Berger C. A. — 1957. Some cytological effects of gibberellin. *Bull. Torrey Bot. Club.*, **84**, 356-360.

Bergmann L. — 1958. Der Einfluss von Gibberellin auf das Wachstum von Gewebekulturen des Callus von *Daucus carota*. *Planta*, **51**, 70-73.

Bernstein Z. et Fahn A. — 1960. The effect of annual and biannual pruning on the seasonal changes in xylem formation in the grapevine. *Ann. Bot., N. S.*, **24**, 159-171.

Bershova O. I. — 1959. (Influence des oligoéléments sur la formation d'hétéroauxine par les microorganismes du sol). *Mikrobiol. Ukraïn. Zh.*, **21**, 3-10.

Bessis R. — 1962. Sur quelques particularités des corrélations entre bourgeons d'un an, dans les sarments de la Vigne. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **255**, 3214-3216.

Bessis R. — 1963. Nouvelles observations sur les corrélations entre bourgeons d'un an chez la Vigne. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **256**, 1586-1588.

Blommaert K. L. J. — 1955. The signifiance of auxins and growth inihibiting substances in relation to winter dormancy of the peach tree. *Union S. Africa. Dept. Agr., Sci. Bull.*, n° 368, 1.

Bonner J. — 1946. Relation of toxic substances to growth of guayule in soil. *Bot. Gaz.*, **107**, 343-351.

Borrel-Malfitano. *In* Duclaux J. — 1945. *Ultrafiltration*. Hermann, éd. Paris. Vol. I.

Bouriquet R. — 1952. Sur l'emploi d'un emporte-pièces pour le prélèvement et la mise en culture de fragments de parenchyme vasculaire de Topinambour. *C. R. Soc. Biol.*, **146**, 1897-1899.

Bowen G. D. et Rovira A. D. — 1961. The effects of microorganisms on plant growth I. Development of roots and root hairs in sand and agar. *Plant and Soil*, **15**, 166-188.

Boysen-Jensen P. — 1931. Uber Wachstumregulatoren bei Bakterien. *Biochem. J.*, **236**, 205-210.

Bradley M. V. et Crane J. C. — 1957. Gibberellin stimulated cambial activity in stems of apricot spur shoots. *Science*, **126**, 972-973.

Branas J. — 1957. Sur quelques données ontogéniques. *Progr. agric. vitic.*, 74e année, n° 31-32, 58-67.

Branas J., Bernon G. et Levadoux L. — 1946. *Eléments de viticulture générale*. Ec. Nat. Agric. éd., Montpellier.

Braun A. C. — 1956. The activation of two growth-substance systems accompanying the conversion of normal to tumor cells in crown-gall. *Cancer Res.*, **16**, 53-56.

Braun A. C. — 1962. Tumor inception and development in the crown gall disease. *Annu. Rev. Pl. Physiol.*, **13**, 533-558.

Brian P. W. — 1957. The effects of some microbial metabolic products on plant growth. *In Symposia Soc. Exptl. Biol.* The biological action of growth substances, n° 11, 166-182. Academic Press Inc., New York.

Brian P. W., Hemming H. G. et Radley M. — 1955. A physiological comparison of gibberellic acid with some auxins. *Physiol. Plant.*, **8**, 899-912.

Brunel A. — 1949. *Traité pratique de chimie végétale.* G. Frères éd., Tourcoing. Vol. I.

Brunel G. — 1956. L'importance des composés à fonction thiol dans le métabolisme des végétaux supérieurs. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **2**, 91-109.

Buis R. — 1959. Quelques observations sur les dormances hivernales des bourgeons et du cambium de plantes ligneuses. *C. R. Soc. Biol.*, **153**, 1218-1221.

Bukatsch F. et Heitzer J. — 1952. Beiträge sur Kenntnis der Physiologie von *Azotobacter. Arch. Mikrobiol.*, **17**, 79-96.

Bukatsch F., Burger K. et Schlüter M. — 1956. Untersuchungen über Eiweiss und Eiweisstoffwechsel bei *Azotobacter* mit besonderer Berücksichtigung der Indolkörper. *Zbl. Bakt.*, **109**, 226-235.

Burger K. et Bukatsch F. — 1958. Uber die Wuchsstoffsynthese im Boden frei lebender, stickstoffbinder Bakterien. *Zbl. Bakt. II abt.*, **111**, 1-28.

Burkholder P. R. — 1939. Production of growth substance by bacteria in media containing specific organic and inorganic nitrogenous compounds. *Amer. J. Bot.*, **26**, 422-428.

Burkholder P. R. et Mc Veigh I. — 1942. Synthesis of vitamin by intestinal bacteria. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.*, **28**, 285-289.

Büsgen M. — 1929. *The structure and life of forest trees.* Eng. trans. London.

Camus G. — 1949. Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse. *Thèse, Paris.*

Chajlakhjan M. KH., Galach'jan R. M. et Sarkisova M. M. — 1962. (Influence, sur la formation des racines par les boutures de vignes, d'exsudats de bactéries, provoquant des tumeurs chez les végétaux). *Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R.*, **176**, 1227-1230.

Chalvignac A. — 1962. Incidence des *Azotobacter* sur la nutrition et la croissance du lin (*Linum usitatissimum*). *Agrochimica*, **6**, 286-292.

Champagnat P. — 1952. Sur la diversité des mécanismes de corrélation chez les végétaux. *Thèse, Strasbourg.*

Chan-Thom L. A. — 1951. A study of the respiration of hardy pear buds in relation to rest period. *Doctoral thesis, Berkeley,* California.

Chardenon J. et Taris B. — 1960. Recherches sur la reprise de l'activité du cambium de cultivars de *Populus,* cultivés *in vitro. C. R. Acad. Sci. Paris,* **251**, 120-121.

Cheema G. S., Bhat S. S. et Naik K. C. — 1954. *Commercial fruits of India.* Mac Millan ltd.

Cholodny N. G. — 1951. The soil atmosphere as a source of organic plant nutrients. *Pochvovedenie,* 16-29. *In Chem. Abs.,* 1951, **45**, 4859.

Chouard P. — 1951. *Dormances et inhibitions des graines et des bourgeons. Préparation au forçage. Thermopériodisme.* Centre Doc. Univ. éd., Paris.

Clark F. E. — 1949. Soil microorganisms and plant roots. *Adv. Agron.*, **1**, 242-288.

Clark N. A. et Roller E. M. — 1931. Stimulation of *Lemna major* by organic matter under sterile and non sterile condition. *Soil Sci.*, **31**, 299-310.

Cortesi R. et Girard R. — 1953. Action des antibiotiques sur le développement et la morphogénèse des plantes supérieures. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux,* **92**, 177 et 225-228.

Dagley S., Dawes E. A. et Morrison G. A. — 1950. Production of amino-acids in synthetic media by *Escherichia coli* and *Aerobacter aerogenes*. *Nature*, **165**, 437-438.

Das N. K., Patau K. et Skoog F. — 1956. Initiation of mitosis and cell division by kinetin and indoleacetic acid in excised tobacco pith tissue. *Physiol. Plant.*, **9**, 640-651.

Denny F. E. — 1945. Synergistic effects of three chemicals in the treatment of dormant potato tubers to hasten germination. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **14**, 1-14.

Deysson G. — 1959 a. Action de la kinétine et de la thiokinétine sur la division et l'élongation cellulaire dans les racines d'*Allium sativum* L. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **248**, 1214-1216.

Deysson G. — 1959 b. La kinétine, nouvelle hormone de croissance végétale. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **106**, 369-386.

Duhamet L. — 1949. Action du lait de Coco sur la croissance des tissus du tubercule de Topinambour cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **229**, 1353-1355.

Duhamet L. — 1950. Action du lait de Coco sur la croissance des tissus de *Parthenocissus tricusridata* cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 59-61.

Eggert F. P. — 1949. Studies on rest period in hardy fruit species. *Doctoral thesis, Ithaca, N. Y.*, U. S. A.

Eggert F. P. — 1953. The auxin content of spur-buds of apple as related to the rest period. *Proc. amer. Soc. Hort. Sci.*, **62**, 191-200.

Eifert J. et Eifert A. — 1962. Wirkung einiger IES-Vorstufen auf die Kallusbildung der Weinrebe während der Winterruhe. *Naturwissenschaften*, **49**, 522.

Esaü K. — 1948. Phloem structure in the grapevine and its seasonal changes. *Hilgardia*, **18**, 217-296.

Fallot J. — 1955 a. Cultures de tissus de quelques espèces et variétés du genre *Vitis* et leur comportement. *Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse*, **90**, 163-172.

Fallot J. — 1955 b. Cultures aseptiques de tiges de Vigne prélevées juste avant et pendant le repos hivernal. *Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse*, **90**, 173-181.

Fallot J. — 1955 c. Traitement de boutures de Vigne par la rindite, dans le but d'avancer leur débourrement. *Ann. Ec. nat. sup. agron. Toulouse*, **3**, 21-25.

Fallot J. — 1958. Induction, par *Bacillus megaterium*, de la prolifération *in vitro* des tissus de tiges de *Vitis rupestris*, prélevés pendant la période de repos végétatif. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **246**, 295-298.

Fallot J. — 1959. La prolifération *in vitro* du cambium dormant de *Vitis rupestris*, provoquée par *Bacillus magaterium*, dépend d'un facteur diffusible présent dans le milieu de culture de cette bactérie. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **248**, 2237-2239.

Fallot J. — 1960 a. Prolifération *in vitro* des tissus de topinambour due à l'action de *Bacillus megaterium*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **251**, 1088-1090.

Fallot J. — 1960 b. Action positive de quelques microorganismes sur la prolifération *in vitro* de tissus de topinambour. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **6**, 90-91.

Fallot J. — 1961 a. Activité comparée des méristèmes primaire et secondaire de tiges de Vigne. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **7**, 75-77.

Fallot J. — 1961 b. Effets du froid et de la rindite sur les méristèmes de tiges de *Vitis rupestris du Lot* en repos végétatif. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **252**, 3861-3863.

Fallot J. — 1963. Bactéries et tissus végétaux en culture. *Ann. Inst. Pasteur*, **105**, 188-194.

Fennell J. L. — 1948. Inheritance studies with the tropical grapes. *J. Hered.*, **39**, 54-64.

Frieber W. — 1961. Beiträge zur Frage der Indolbildung und der Indolreaktionen sowie zur Kenntnis des Verhaltens indolnegativer Bakterien. *Zbl. Bakt.* (1) Orig., **87**, 254-277.

Garibaldi J. A., Ijichi K., Snell N. S. et Lewis J. C. — 1953. *Bacillus megaterium* for biosynthesis of cobalamine. *Industr. engng. Chem.*, **45**, 838-846.

Gautheret R. J. — 1942. Hétéro-auxines et cultures de tissus végétaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **24**, 13-41.

Gautheret R. J. — 1947. Action de l'acide indole-acétique sur le développement des tissus normaux et des tissus de crown-gall de Topinambour cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **224**, 1728-1730.

Gautheret R. J. — 1948. Action de l'acide indole-acétique sur le développement de trois types de tissus de Scorsonère : tissus normaux, tissus de crown-gall et tissus accoutumés à l'hétéro-auxine. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 774-775.

Gautheret R. J. — 1959. *La culture des tissus végétaux*. Masson éd., Paris.

Gautheret R. J. — 1961. Action conjuguée de l'acide gibbérellique, de la cinétine et de l'acide indole-acétique sur les tissus cultivés *in vitro*, particulièrement sur ceux de Topinambour. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **253**, 1381-1385.

Genkelj P. A. et Oknina E. Z. — 1948. (Dormance chez les plantes). *Dokl. Akad. Nauk S. S. S. R.*, **62**, 409-412. *In* Samish, 1954.

Gerlach E. et Döring H. J. — 1955. Schnell Identifizierung von Adenin. Adenosin, Adenosin-phosphorsäuren und Pyridinnukleotiden in Papierchromatogrammen. *Naturwissenschaften*, **42**, 344.

Gioelli F. — 1938. Morfologia, istologia, fisiologia e fisiopatologia di meristemi secondari *in vitro*. *Atti. Acad. Sci. Ferrara*, **16**, 1-87.

Gioelli F. — 1940 a. Produzione di tumori per mezzo dei *Bacterium tumefaciens* su culture *in vitro* di tessuti vegetali. *Nuovo Giorn. bot. ital.*, **47**, 452-453.

Gioelli F. — 1940 b. L'azione di filtrati di *Bacteruim tumefaciens* su culture *in vitro* di tessuti vegetali. *Riv. Patol. veg.*, **18**, 117-130.

Goas M. — 1959. Contribution à la physiologie des composés thiols chez les végétaux. Etude comparée de leur métabolisme chez les liliacées; leur localisation et leur importance dans les organes en croissance. *Thèse, Toulouse.*

Gordon S. A. et Weber R. P. — 1951. Colorimetric estimation of IAA. *Plant Physiol.*, **26**, 192-195.

Gouventak C. A. — 1941. Cambial activity as dependent on the presence of growth hormone and the non-resting condition of stems. *Proc. Ned. Akad. v. Wetensch. Amsterdam*, **44**, 654-663.

Greulach V. et Haesloop J. G. — 1958. The influence of gibberellic acid on cell division and cell elongation in *Phaseolus vulgaris*. *Amer. J. Bot.*, **45**, 566-570.

Grieve B. J. — 1939. Epinastic response induced in plants by *Bacterium solanacearum*. *Ann. Bot.*, **11**, 587-600.

Gruen H. E. — 1959. Auxins and fungi. *Annu. Rev. Plant. Physiol.*, **10**, 405-440.

Guillon J. M. — 1904. Sur la croissance des sarments. *Rev. Vitic.*, **22**, 429-433.

Gunckel J. E. et Thimann K. V. — 1949. Auxin production in shoot growth. *Amer. J. Bot.*, **36**, 145-151.

Guthrie J. D. — 1940. Role of glutathions in the breaking of the rest period of buds by ethylene chlorhydrin. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **2**, 261-270.

Guttmann R. — 1956. Effects of kinetin on cell division, with special reference to initiation and duration of mitosis. *Chromosoma*, **8**, 341-350.

Haberlandt G. — 1921. Zur Physiologie der Zellteilung. 6. Mitteilung über Auslösung von Zellteilung durch Wundhormone. *Ber d. K. preuss. Akad. d. Wiss. Berlin*, 221-234.

Hartig R. — 1892. Uber Dickenwachstum und Jahrringsbildung. *Bot. Zeit.*, **50**, 176-180, 193-196.

Hayashi F., Blumenthal-Goldschmidt S. et Rappaport L. — 1962. Acid and neutral gibberellin-like substances in potato tubers. *Plant Physiol.*, **37**, 774-780.

Heller R. — 1953. Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. *Thèse, Paris.*

Hemberg T. — 1947. Studies of auxins and growth-inhibiting substances in the potato tuber and their signifiance with regard to its rest period. *Acta Hort. Bergiani*, **14**, 133-220.

Hemberg T. — 1949 a. Signifiance of growth inhibiting substances and auxins for the rest period of the potato tuber. *Physiol. Plant.*, **2**, 24-36.

Hemberg T. — 1949 b. Growth inhibiting substances in terminal buds of *Fraxinus*. *Physiol. Plant.*, **2**, 37-44.

Hemberg T. — 1952. The signifiance of the acid growth inhibiting substances for the rest period of the potato tuber. *Physiol. Plant.*, **5**, 115-129.

Hendershott C. H. et Walker D. R. — 1959. Identification of a growth inhibitor from extracts of dormant peach flower buds. *Science*, **130**, 798-800.

Henderson J. H. M. — 1958. Effect of gibberellin on sunflower tissue culture. *Nature*, **182**, 880.

Hildebrandt A. C., Riker A. J. et Duggar B. M. — 1946. The influence of the composition of the medium on growth *in vitro* of excised tobacco and sunflower tissue cultures. *Amer. J. Bot.*, **33**, 591-597.

Hildebrandt A. C. et Riker A. J. — 1947. Influence of some growth regulating substances on sunflower and tobacco tissue *in vitro*. *Amer. J. Bot.*, **34**, 421-427.

Hopkins F. G. et Cole S. W. — 1903. A contribution to the chemistry of proteids. Part. II. The constitution of tryptophane, and the action of bacteria upon it. *J. Physiol.*, **29**, 451-466.

Housley S. et Taylor W. C. — 1958. Studies on plant-growth hormones. VI. The nature of inhibitor β in potato. *J. Exper. Bot.*, **9**, 458-471.

Hovard W. D. — 1910. An experimental study of the rest period of plants. The winter rest. *Mo. Agr. Exp. Sp. Res. Bull.*, **1**, 1-105. *In* Chouard, 1951.

Huglin P. — 1958. Recherches sur les bourgeons de la Vigne: initiation florale et développement végétatif. *Thèse, Strasbourg.*

Jablonski J. R. et Skoog F. — 1954. Cell enlargement and cell division in excised tobacco pith tissue. *Physiol. Plant.*, **7**, 16-24.

Jacquiot C. — 1947. Effet inhibiteur des tannins sur le développement des cultures *in vitro* du cambium de certains arbres forestiers. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **225**, 434-436.

Jacquiot C. — 1951 a. Sur les facteurs déterminant la reprise de l'activité du cambium chez diverses essences forestières. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **232**, 2350-2352.

Jacquiot C. — 1951 b. Action du méso-inositol et de l'adénine sur la formation de bourgeons par le tissu cambial d'*Ulmus campestris* cultivé *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **233**, 815-817.

Jacquiot C. — 1954. Action sur des tissus végétaux de facteurs naturels produits par des organismes parasites d'arbres. *Ann. Biol.*, **30**, 457-460.

Jacquiot C. — 1956. Sur les besoins en auxine et les caractères morphologiques externes des cultures de tissu cambial de quelques espèces d'arbres. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **240**, 557-558.

Jerebzoff S. — 1961. Etude de phénomènes périodiques provoqués par des facteurs physiques et chimiques chez quelques champignons. *Thèse, Toulouse.*

Jerebzoff-Quintin S. — 1959. Sur le rôle de certains acides organiques comme antagonistes de l'action inhibitrice de l'auxine chez *Nectria galligena*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **248**, 1389-1392.

Jost L. — 1891. Uber Dickenwachstum und Jahresringbildung. *Bot. Zeit.*, **49**, 485-495, 501-510, 525-531, 541-547, 557-563, 573-579, 589-596, 605-611, 625-630.

Jost L. — 1892. Beobachtungen über den zeitlichen Verlauf des secundären Dickenwachstums der Bäume. *Ber. Dtsch. bot. Ges.*, **10**, 587-605.

Jost L. — 1893. Uber Beziehungen zwischen der Blattenwicklung und der Gefässbildung in den Pflanzen. *Bot. Zeit.*, **51**, 89-138.

Kandler O. — 1951. Uber den Einfluss von Bodenbakterien und deren Filtraten auf das Wachstum *in vitro* kultivierter Wurzeln. *Arch. Mikrobiol.*, **15**, 430-438.

Kassem M. M. — 1944. The seasonal variation of hormones in pear buds in relation to dormancy. *Doctoral thesis, Berkeley*, California, U. S. A.

Kato J. — 1953. Studies on the physiological effect of gibberellin. I. On the differential activity between gibberellin and auxin. *Mem. Coll. Agr. Univ. Kyoto*, Ser. B, **20**, 189-193.

Kato Y. — 1955. Responses of plant cells to gibberellin. *Bot. Gaz.*, **117**, 16-24.

Kato J. — 1958. Studies on the physiological effect of gibberellin. II. On the interaction of gibberellin with auxins and growth inhibitors. *Physiol. Plant.*, 10-15.

Katznelson H., Lochhead A. G. et Timonin M. I. — 1948. Soil microorganisms and the rhizosphere. *Bot. Rev.*, **14**, 543-587.

Katznelson H. et Sirois J. C. — 1961. Auxin production by species of *Arthrobacter*. *Nature*, **191**, 1323-1324.

Katznelson H., Sirois J. C. et Coles S. E. — 1962. Production of a gibberellin-like substance by *Arthobacter globiformis*. *Nature*, **196**, 1012-1013.

Kehr A. E. et Smith H. H. — 1954. Genetics tumors in *Nicotiana* hybrids. Abnormal and pathological plant growth. *Brookhaven Symp. Biol.*, **6**, 55-78.

Klein R. M. — 1952. Nitrogen and phosphorus fractions, respiration and structure of normal and crown gall tissues of tomato. *Plant. Physiol.*, **27**, 335-354.

Kondo I. N. — 1955. (Repos des bourgeons de Vigne). *Dokl. Akad. Nauk S. S. S. R.*, **102**, 633-636.

Koublitzkaja M. A. 1955. (Chlorose parasitaire de la Vigne en Asie centrale). *Thèse. In* Krassilnikov, 1958.

Kovoor A. — 1960. Action de quelques régulateurs de croissance extraits de deux espèces de *Parthenocissus* sur le développement de tissus végétaux cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **250**, 1903-1905.

Kovoor A. — 1962. Essai d'isolement d'un régulateur de croissance présent dans le lait de Coco. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **255**, 1991-1993.

Kozlowski A. — 1935. *In* Krassilnikov, 1958.

Krassilnikov N. A. — 1958. (Les microorganismes du sol et les plantes supérieures). *Ed. Akad. Nauk S. S. S. R., Moscou.*

Krassilnikov N. A. et Garkina N. B. — 1939 (Effet des bactéries du sol sur la croissance du blé). *Microbiologija S. S. S. R.*, **8**, 952.

Krassilnikov N. A. et Koublitzkaja M. A. — 1956. (Rôle des toxines et antitoxines microbiennes dans l'apparition de la chlorose chez la Vigne). *Dokl. Akad. Nauk S. S. S. R.*, **110**, 703-705.

Krassnosselskaja T. A. et Richter A. A. — 1942. (Transmission de la rupture de la dormance hivernale des bourgeons le long des tiges de plantes ligneuses). *Dolk. Akad. Nauk S. S. S. R.*, **35**, 184-186.

Kronberger M. — 1949. Versuche zum Impfproblem von Nichtleguminosen. *Landw. Jb. Bayern*, **26**, 17-41.

Kulescha Z. — 1951. Recherches sur l'élaboration de substances de croissance par les tissus végétaux. *Thèse, Paris.*

Kulescha Z. et Gautheret R. J. — 1947. Sur les variations du pouvoir de prolifération des tissus de Topinambour. *C. R. Soc. Biol.*, **141**, 61-63.

Künning H. — 1950. Untersuchungen über die Wirkstoffregulation der Kambiumtätigkeit. *Planta*, **38**, 36-64.

Kupila S. et Stern H. — 1961. DNA content of broad bean (*Vicia faba*) internodes in connection with tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.*, **36**, 216-219.

Lang A., Sachs R. M. et Bretz Ch. — 1959. Effets morphogénétiques de la gibbérelline. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.* **5**, 1-16.

Lasfargues E. et Delaunay A. — 1947. Tréphones d'origine microbienne. *Ann. Inst. Pasteur*, **73**, 404-407.

Lee S. B. et Burris R. H. — 1943. Large-scale production of *Azotobacter*. *Industr. engng Chem.*, **35**, 354-357.

Leivonen H. — 1958. The effect of gibberellins and indole-3-acetic acid on the root cells of *Narcissus Tazetta* L. *Plant. Physiol.*, **11**, 838-844.

Van der Lek H. A. A. — 1925. Over de Wortelvorming van houtige Stekken. *Meded. Landb. Hoogesch.*, Wageningen, **28**, I-230.

Lemoigne M. — 1925. Etudes sur l'autolyse microbienne. Acidification par formation d'acide β-hydroxybutyrique. *Ann. Inst. Pasteur*, **39**, 144-173.

Lemoigne M. — 1927. Etudes sur l'autolyse microbienne. Origine de l'acide β-hydroxybutyrique formé par autolyse. *Ann. Inst. Pasteur*, **41**, 148-165.

Lemoigne M. et Roukhelman N. — 1940. Caractérisation et évolution des produits de déshydratation et de polymérisation de l'acide β-hydroxybutyrique. *Ann. Ferment.*, **5**, 527-536.

Lochhead A. G. — 1958. Soil bacteria and growth promoting substances. *Bact. Rev.*, **22**, 145-153.

Locke S. B., Riker A. J. et Duggar B. M. — 1939. Production of growth substance on peptone broth by crown-gall bacteria and related on gall-forming organisms. *J. Agric. Research.*, **59**, 519-525.

Loiseleur J. — 1954. *Techniques de laboratoire.* Masson, éd., Paris.

Lona F. — 1957. Azione gibberellicosimile di estratti ottenuti da giovani strutture fiorali di *Brassica napus* L. var. *oleifera*. *Ateneo Parmense*, **28**, 111-115.

Mac Laren A. D., Jensen W. A. et Jacobson L. — 1960. Absorption of enzymes and other proteins by barley roots. *Plants Physiol.*, **35**, 549-556.

Mac Manus A. — 1960. Certain mitotic effects of kinetin, gibberellic acid, indoleacetic acid and maleic hydrazide on the root of *Allium cepa*. *Nature*, **185**, 44-45.

Mac Millan J. et Suter P. J. — 1958. The occurence of gibberellin A1 in higher plants : isolation from the seed of runner bean (*Phaseolus multiflorus*). *Naturwissenschaften*, **45**, 46.

Magoon C. A. et Dix I. W. — 1943. Observations on the response of grape vines to winter temperatures as related to their dormancy requirements. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **42**, 407-412.

Mal'ceva H. M. — 1961 (Rapports entre *Bacillus megaterium* et les vitamines). *Mikrobiol. Ukr. Zh. S. S. R.*, **32**, 9-12.

Manigault P. et Stoll Ch. — 1958. Induction aseptique d'une tumeur végétale (Crown-gall). Participation des acides nucléiques de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* Smith et Townsend. *Ann. Inst. Pasteur*, **95**, 793-795.

Manil P., Delcambe L. et Fourneau J. — 1955. A propos de l'étiologie du crown-gall : action sur le végétal des acides nucléiques extraits d'*Agrobacterium tumefaciens* Smith et Townsend. *Bull. Acad. Roy. Belgique Cl. Sc.*, **41**, 259-274.

Manzelli M. A., Adler N. et Merritt J. M. — 1962. Gibberellin-like-activity of Kudzu Vine extract. *Nature*, **196**, 492-493.

Margara J. et Morel G. — 1960. Mise en évidence d'une substance du type gibbérelline chez plusieurs espèces du genre *Beta*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **250**, 749-751.

Mauney J. R., Hillman W. S., Miller C. O., Skoog F., Clayton R. A. et Strong F. M. — 1952. Bioassay, purification and properties of a growth factor from coconut. *Physiol. Plant.*, **5**, 485-497.

Mayer L. — 1956. Wachstum und Organbildung an *in vitro* kultivierten Segmenten von *Pelargonium zonale* und *Cyclamen persicum*. *Planta*, **47**, 401-446.

Michl H. — 1953. Uber den Nachweiss von Purinderivaten auf Filtrierpapier. *Naturwissenschaften*, **40**, 390.

Miller C. O. — 1960. An assay for kinetin-like materials. *Plant Physiol., Suppl.*, **35**, 26.

Miller C. O. — 1961. Kinetin and related compounds in plant growth. *Annu. Rev. Pl. Physiol.*, **12**, 395-446.

Miller C. O., Skoog F., von Saltza M. H. et Strong F. M. — 1955. Kinetin a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *J. amer. chem. Soc.*, **77**, 1392.

Miller C. O., Skoog F., Okumura F. S., von Saltza M. H. et Strong F. M. — 1956. Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division. *J. amer. chem. Soc.*, **78**, 1375-1380.

Mitchell J. W., Skaggs D. P. et Anderson W. P. — 1951. Plant growth stimulating hormones in immature bean seeds. *Science*, **114**, 159-161.

Mockeridge F. A. — 1924. The formation of plant growth-promoting substances by microorganisms. *Ann. Bot.*, **38**, 723-734.

Molisch H. — 1908. Uber ein einfaches Verfahren Pflanzen zu treiben (Warmbad-methode). *Anz. K. Akad. Wiss. Wien., Math-Nat. Kl.*, **117**, 87-117 et 1909, **118**, 637-691.

Molisch H. — 1909. Warmbad und Pflanzentreiberei. *Oesterreich. Garten. Zeitung*, **4**, 17-23 et 50-59.

Montuelle B. — 1963. Production d'acide indole-acétique par des bactéries. *Bull. Soc. bot. du Nord de la France*, **16**, 13-15.

Morel G. — 1944. Sur le développement des tissus de Vigne cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, **138**, 62.

Morel G. — 1946. Action de l'acide pantothénique sur la croissance des tissus d'Aubépine cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **223**, 166-168.

Morel G. — 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. *Thèse, Paris.*

Moritz O. et von Berg H. — 1931. Serologische Studien über das Linswickenproblem. *Biol. Zbl.*, **51**, 290-307.

Müller W. H. et Müller C. H. — 1956. Associations patterns involving desert plants that contain toxic products. *Amer. J. Bot.*, **43**, 354-361.

Netien G. — 1957. Action des gibbérellines sur la culture des tissus végétaux cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **244**, 2732-2733.

Netien G. — 1958. Action de la gibbérelline sur différents types de tissus végétaux cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Paris*, **247**, 1645-1647.

Netien G. — 1959. Effets de la gibbérelline sur la culture des tissus végétaux. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **5**, 23-24.

Netien G. — 1963. Mise en évidence d'une substance du type gibbérelline dans les bourgeons d'espèces ligneuses. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **256**, 997-999.

Netien G. et Beauchesne G. — 1953. Différentes substances de croissance décelées dans l'extrait laiteux de graines de maïs et étudiées sur la culture *in vitro* de tissu de tubercules de Topinambour. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **237**, 1026-1028.

Nickell L. G. — 1952. Stimulation of plant growth by antibiotics. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.*, **80**, 615-617.

Nickell L. G. — 1953. Antibiotics in the growth of plants. *Antibiotics a. Chemotherapy*, **3**, 449-459.

Nickell L. G. — 1958. Gibberellin and the growth of plant tissues cultures. *Nature*, **181**, 499-500.

Nickell L. G. et Finlay A. C. — 1954. Antibiotics and their effects on plant growth. *Agric. Food. Chem.*, **2**, 178-182.

Nickell L. G. et Tulecke W. — 1958. Responses of plant-tissues cultures to gibberellin. *Bot. Gaz.*, **120**, 245-250.

Nielsen N. — 1928. Untersuchungen über Stoffe, die das Wachstum der Avenacoleoptile beschleunigen. *Planta*, **6**, 376-378.

Nigond J. — 1960. Le retard au débourrement de la vigne par un traitement à l'acide α-naphtalène acétique et la lutte contre les gelées. *C. R. Acad. Agr. Fr.*, **46**, 452-457.

Nigond J. — 1961 a. Contribution à l'étude de la dormance de la Vigne sous le climat du Languedoc. *Thèse* 3e *Cycle, Paris.*

Nigond J. — 1961 b. Etude de la dormance de la Vigne sous le climat du Languedoc. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **7**, 78-81.

Nitsch J. P. — 1955. Methods for the investigation of natural auxins and growth inhibitors. *Proc. Conference on Plant growth substances*, Wye College, England.

Nitsch J. P. — 1958. Présence de gibbérellines dans l'albumen immature du Pommier. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **105**, 479-482.

Nitsch J. P. — 1960 a. Présence d'une substance type « Kinétine » dans le jus de Tomate. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **107**, 263-267.

Nitsch J. P. — 1960 b. La chromatographie double à une dimension et son emploi à la séparation des substances de croissance. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **107**, 247-250.

Nitsch J. P. et Nitsch C. — 1956 a. Studies on the growth of coleoptile and first internode sections. A new, sensitive, straight-growth test for auxins. *Plant Physiol.*, **31**, 94-111.

Nitsch J. P. et Nitsch C. — 1956 b. Auxin-dependent growth of excised *Helianthus tuberosus* tissues. *Amer. J. Bot.*, **43**, 839-851.

Nitsch J. P. et Nitsch C. — 1957. Auxin-dependent growth of excised *Helianthus tuberosus* tissues. II. Organic nitrogenous compounds. *Amer. J. Bot.*, **44**, 555-564.

Nitsch J. P. et Nitsch C. — 1962. Activités comparées de neuf gibbérellines sur trois tests biologiques. *Ann. Physiol. vég.*, **4**, 85-97.

Nysterakis F. — 1953. L'auxine est-elle, à la fois, métabolite et antimétabolite ? 78e *Congr. Soc. Sav.*, 219-236.

Nysterakis F. — 1954 a. Considérations nouvelles sur le mécanisme de l'inhibition provoquée par l'auxine. Conséquences possibles dans l'interprétation des corrélations chez les végétaux. *Rev. Gén. Bot.*, **61**, 285-386.

Nysterakis F. — 1954 b. Contribution à l'étude du rôle de l'auxine sur la rhizogenèse. 8e *Congr. intern. Bot.*, Paris, Sections 11 et 12, 134-135.

Nysterakis F. — 1958. Antagonisme entre auxine et citrulline sur le test *Nectria galligena*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **246**, 818-821.

Nysterakis F. — 1961. Formation de plantules au sein des tissus de tomates cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **253**, 1006-1008.

Nysterakis F. — 1962. Sous conditions aseptiques, les graines de tomates mûres donnent également des plantules au sein des tissus de fruits mûrs. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **255**, 1004-1006.

Nysterakis F. — 1963. Au cours de la plupart de nos investigations, faut-il ou non tenir compte des enseignements de Pasteur ? *C. R. Acad. Sci. Paris*, **256**, 762-764.

Olszewska M. J., Maciejewska-Potapczykowa W. et Sempinska E. — 1957. Dzialanic kinetyny wyizolowanej z kwasu dezoksyrybonukleinowego (z grasicy) na tkanti roslinne. 11 : Badania anatomiczne. *Acta Soc. Bot. Polon.*, **26**, 583-596.

Van Overbeek J., de Vasquez E. S. et Gordon S. A. — 1947. Free and bound auxin in the vegetative pineapple plant. *Amer. J. Bot.*, **34**, 266-270.

Panossian A. K., Arutunian R. S. et Marshavina Z. V. — 1963 (L'effet des métabolites de microorganismes du sol sur la croissance et le développement des plantes). *Z. allg. Mikrobiol.*, **3**, 42-46.

Paris D. — 1955. Action de quelques vitamines hydrosolubles sur les cultures de tissus végétaux. *Ann. Biol.*, **31**, 15-29.

Paris D. et Duhamet L. — 1958. Sur un cas de sensibilité des tissus de crown-gall de Scorsonère à l'acide indole-acétique. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **246**, 2023-2026.

Philipson W. R. et Sheat D. E. G. — 1963. Induction of callus on decapitated hypocotyls of *Helianthus* by *Escherichia coli* and other bacteria. *Nature*, **197**, 204-205.

Phillips I. D. — 1962. Some interactions of gibberellic acid with Naringenin (5, 7, 4'-trihydroxy flavanone)in the control of dormancy and growth in plants. *J. Exper. Bot.*, **38**, 213-226.

Phillips I. D. et Wareing P. F. — 1958. Studies in dormancy of Sycamore. 1. Seasonal changes in the growth-substances content of the shoot. *J. Exper. Bot.*, **9**, 350-364.

Phinney B. O. — 1956. Growth response of single-gene dwarf mutants in maize to gibberellic acid. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **42**, 185-189.

Phinney B. O., West C. A., Ritzel M. et Neely P. M. — 1957. Evidence for « gibberellin-like » substances from flowering plants. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **43**, 398-404.

Pochon J. et de Barjac H. — 1958 a. Interactions entre la croissance des *Azotobacter* et celle du Maïs. *Ann. Inst. Pasteur*, **94**, 419-427.

Pochon J. et de Barjac H. — 1958 b. *Traité de microbiologie des sols*. Dunod, éd., Paris.

Pollock B. — 1950. An investigation of the physiology of the rest period in trees. *Doctoral thesis, Rochester*, N. Y., U. S. A.

Popova T. E. — 1954 (Quelques règles concernant l'action de la microflore des racines de la Vigne sur son développement). *In* Krassilnikov, 1958.

Pouget R. — 1960. Détermination des phases de la dormance des bourgeons latents de la Vigne (*Vitis vinifera* L.) au cours du cycle végétatif. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **251**, 1412-1414.

Pouget R. — 1961. Nouvelles observations sur les phases de la dormance des bourgeons latents de la Vigne. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **7**, 77-78.

Pouget R. — 1963. Recherches physiologiques sur le repos végétatif de la Vigne (*Vitis vinifera* L.) : la dormance des bourgeons et le mécanisme de sa disparition. *Thèse, Bordeaux.*

Pouget R. et Rives M. — 1958. Action de la rindite sur la dormance de la Vigne (*Vitis vinifera* L.). *C. R. Acad. Sci. Paris*, **246**, 3664-3666.

Quenot N. — 1947. La Vigne en pays tropicaux. *L'Agronomie tropicale*, **2**, 647-650.

Radley M. — 1958. The distribution of substances similar to gibberellic acid in higher plants. *Ann. Bot.*, **22**, 297-307.

Rasnizina E. A. — 1938 (Formation de substances de croissance, type auxine, par les bactéries). *Dokl. Akad. Nauk. S. S. S. R.*, **18**, 353-355.

Reinert J. et White P. R. — 1956. The cultivation *in vitro* of tumor tissues and normal tissues of *Picea glauca*. *Physiol. Plant.*, **9**, 177-189.

Rempe E. H. et Kaltagova O. G. — 1962 (Influence de la microflore radiculaire sur l'activité des processus physiologiques végétaux). *Agrobiologija*, **6**, 866-878.

Richter A. A. et Krassnosselskaja T. A. — 1945 (Contribution à la connaissance de la rupture de la dormance hivernale dans les bourgeons des plantes ligneuses). *Dokl. Akad. Nauk S. S. S. R.*, **35**, 218-219.

Rier J. P. et Henderson J. H. M. — 1956. The effect of bacitracin on sunflower tissue cultures contaminated with bacteria. *J. Nat. Cancer Inst.*, **16**, 981-984.

Rivals P. — 1957. Note sur la biologie de la Vigne cultivée. Sa biogéographie en Russie et dans le continent asiatique. *C. R. Soc. Biogéogr.*, **295**, 25-31 et **299**, 113-120.

Rivals P. et Assaf R. — 1963. Précocité et aptitude à l'émission de racines par les nœuds successifs de quelques vignes à bouturage difficile. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **49**, 890-897.

Rives M. et Pouget R. — 1959. Action de la gibbérelline sur la dormance de la Vigne (*Vitis vinifera* L.). *C. R. Acad. Sci. Paris*, **248**, 3600-3602.

Roberts J. L. et Roberts E. — 1939. Auxin production by soil microorganisms. *Soil Sci.*, **48**, 135-139.

De Ropp R. S. — 1947 a. The isolation and behaviour of bacteria-free crown-gall tumor tissues to synthetic growth hormones. *Amer. J. Bot.*, **34**, 53-62.

De Ropp R. S. — 1947 b. The isolation and behaviour of bacteria - free crown-gall tissue from primary galls of *Helianthus annuus*. *Phytopathology*, **37**, 201-206.

Sachs R. M. et Lang A. — 1957. Effect of gibberellin on cell division in *Hyoscyamus*. *Science*, **125**, 1144-1145.

Sachs R. M., Bretz C. et Lang A. — 1959. Cell division and gibberellic acid. *Exper. Cell. Res.*, **18**, 230-244.

Samish R. M. — 1954. Dormancy in woody Plants. *Annu. Rev. Pl. Physiol.*, **5**, 193-204.

Sandstedt R. — 1960. Materials in yeast extract which promote growth of higher plant tissues. *Ph. D. thesis, Wisconsin*, U. S. A.

Sandstedt R. et Skoog F. — 1960. Effects of amino-acid components of yeast extract on the growth of tobacco tissue *in vitro*. *Physiol. Plant.*, **13**, 250-256.

Schopfer W. H. — 1943. *Plants and Vitamins.* Chronica Botanica Co, éd., Waltham, Mass.

Schroeder C. A. et Spector C. — 1957. Effect of gibberellic acid and indoleacetic acid on growth of excised fruit tissue. *Science*, **126**, 701-702.

Shantz E. M., Mears K. et Steward F. C. — 1958. Comparison between the growth-promoting effects on carrot tissue of Coconut milk and of kinetin and certain of its analogues. *Plant Physiol., Suppl.*, **33**, 16.

Sievers E. — 1961. Untersuchungen über Hemmstoffe im Schnittholz der Weinrebe (*Vitis vinifera* L.). *Weinberg u. Keller*, **8**, 383-399.

Sievers E. — 1963. Untersuchungen über die wasserlöslichen Hemmstoffe aus dem Schnittholz der Weinrebe (*Vitis vinifera* L.). II. Zur Wirkung der Hemmstoffe auf Reben verschiedener Entwicklungsstadien. *Naturwissenschaften*, **50**, 598.

Skarnes R. C. — 1952. Studies upon the persistence of animal viruses in soil and their uptake by higher plants. *Master's Thesis, Minneapolis*, U. S. A.

Skoog F. et Tsui C. — 1948. Chemical control of growth and bud formation in tobaccos stem segments and celluls cultivated *in vitro*. *Amer. J. Bot.*, **35**, 782-787.

Slabecka-Szweykowska A. — 1952. On the conditions of anthocyanin formation in the *Vitis vinifera* tissue cultivated *in vitro*. *Acta Soc. Bot. Polon.*, **21**, 537-576.

Slabecka-Szweykowska A. — 1955. On the influence of the wawe length of light on the biogenesis of anthocyanin pigment in the *Vitis vinifera* tissue *in vitro*. *Acta Soc. Bot. Polon.*, **24**, 3-11.

Smalij V. T. — 1958 (Formation d'hétéroauxine dans les cultures de bactéries de la rhizosphère du blé). *Mikrobiol. Ukr. Zh.*, **20**, 5-8.

Smalij V. T. — 1960 (Influence des bactéries de la rhizosphère sur la germination des graines et la croissance des pousses de Blé). *Mikrobiol. Ukr. Zh.*, **22**, 20-24.

Smalij V. T. et Bershova O. I. — 1957 (Formation d'hétéroauxine dans les cultures d'*Azotobacter*). *Microbiologija*, **26**, 526-532.

Snow R. — 1933. The nature of the cambium stimulus. *New Phytol.*, **32**, 288-295.

Snow R. — 1935. Activation of cambial growth by pure hormones. *New Phytol.*, **34**, 347-360.

Snow R. — 1937. On the nature of correlative inhibition. *New Phytol.*, **36**, 283-300.

Söding H. — 1937. Wuchsstoff und Kambiumtätigkeit der Bäume. *Jb. wiss. Bot.*, **84**, 639-670.

Söding H. — 1940. Weitere Untersuchungen über die Wuchsstoff regulation der Kambiumtätigkeit. *Z. Bot.*, **36**, 113-141.

Söding H. — 1961. Meristeme Gewebekulturen. *In* Handbuch der Pflanzenphysiologie, Vol. 14, p. 812-828.

Spicher G. — 1954. Untersuchungen über die Wechselwirkungen zwischen *Azotobacter chroococcum* und höherer Pflanze. *Zbl. Bakt.*, **2**, *Abt.*, **107**, 353-383.

Spiegel P. — 1953. Factors in the rooting of vine cuttings. *Ph. D. thesis, Rehovot*, Israël.

Spiegel P. — 1954. Auxin and inhibitors in canes of *Vitis*. *Bull. Res. Coun. Israël*, **4**, 176-83.

Starkey R. L. — 1958. Interrelations between microorganisms and plant roots in the rhizosphère. *Bact. Rev.*, **22**, 154-172.

Stanton E. N. et Denny F. E. — 1929. Forcing dormant woody plants with chemical vapors. *Boyce Thompson Inst.*, **10**, 70-80.

Steinberg R. A. — 1947. Growth responses of tobacco seedlings in aseptic culture to diffusates of some common soil bacteria. *J. agric. Res.*, **75**, 199-206.

Stille B. — 1957. Schädigungen an Pflanzenwurzeln durch Kulturfiltrate von Mikroorganismen. *Arch. Mikrobiol.*, **26**, 71-82.

Stolp H. — 1952. Beiträge zur Frage der Beziehungen zwischen Mikroorganismen und höheren Pflanzen. *Arch. Mikrobiol.*, **17**, 1-29.

Stowe B. B. — 1955. The production of indol-acetic acid by bacteria. *Biochem. J.*, G. B., **61**, 9-10.

Strasburger E. — 1891. Histologische Beiträge. III. Uber den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena. *In* Camus, 1949.

Straus J. et Epp R. R. — 1960. Response of *Cupressus funebris* tissue cultures to gibberellins. *Science*, **131**, 1806-1807.

Straus J. et Larue C. D. — 1954. Maize endosperm tissue grown *in vitro*, I : Culture requirements. *Amer. J. Bot.*, **41**, 687-694.

Strong F. M. — 1958. *Topics in microbial chemistry*. Kinetin and kinins, p. 98-157. J. Wiley and Sons, éd., London.

Struckmeyer B. E., Hildebrandt A. C. et Riker A. J. — 1949. Histological effects of growth-regulating substances on sunflower tissue crown-gall origin *in vitro*. *Amer. J. Bot.*, **36**, 491-495.

Sumiki Y. — 1952. Biochemical studies of bakanee fungus. 25. The physiological action of gibberellin. *J. agric. Chem. Soc. Japan*, **26**, 393-397.

Supniewska H. — 1958. Influence de la kinétine sur les processus mitotiques dans les méristèmes apicaux des racines des plantes. *Dissert. pharm. Pologne*, **10**, 265-280.

Sussex I. M. et Clutter M. E. — 1959. Seasonal growth periodicity of tissue explants from woody perennial plants *in vitro*. *Science*, **129**, 836-837.

Tackett D. L. et Bailey L. F. — 1958. *Arkansas Acad. Sci. Proc.*, **11**, 15. *In* Fawcett C. H. — 1961. Indole Auxins. *Annu. Rev. Pl. Physiol.*, **12**, 345-348.

Thimann K. V. et Skoog G. F. — 1934. On the inhibition of bud development and other functions of growth substances in *Vicia faba*. *Proc. roy. Soc.*, B, **114**, 317-339.

Thomas A. J. et Klein R. M. — 1959. *In vitro* synthesis of the crown-gall tumor-inducing principle. *Nature*, **183**, 113-114.

Thompson R. C. — 1942. Synthesis of B vitamins by bacteria in pure culture. *University of Texas Publ.*, n° 4237, 87-96.

Thorup S. — 1957. Breaking dormancy of beech. *Physiol. Plant.*, **10**, 728-731.

Torrey J. G. — 1958. Differential mitotic response of diploïd and polyploïd nuclei to auxin and kinetin treatment. *Science*, **128**, 1148.

Torrey J. G. — 1961. Kinetin as trigger for mitosis in mature endomitotic plant cells. *Exp. cell. Res.*, **23**, 281-299.

Vancura V. — 1961. Detection of gibberellic acid in *Azotobacter* cultures. *Nature*, **192**, 88-89.

Vancura V. et Macura J. — 1960. Indole derivatives in *Azotobacter* cultures. *Fol. Microbiol.*, **5**, 293-297.

Vardjan M. et Nitsch J. P. — 1961. La régénération chez *Cichorium endivia* L. : étude des auxines et des « Kinines » endogènes. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **108**, 363-374.

Vasil I. K. — 1957. Effect of kinetin and gibberellic acid on excised anthers of *Allium cepa*. *Science*, **126**, 1294-1295.

Verona O. — 1963. Interaction entre la graine en germination et les microorganismes telluriques. *Ann. Inst. Pasteur*, **105**, 75-98.

Vischer E. et Chargaff E. — 1947. The separation and characterization of purines in minute amounts of nucleic aicd hydrolysates. *J. biol. Chem.*, **168**, 781-782.

Volcani Z., Riker A. J. et Hildebrandt A. C. — 1953. Destruction of various tissues in culture by certain bacteria. *Phytopathology*, **43**, 92-94.

Vozniakovskaja Y. M. — 1963 (Sélection de microorganismes en vue de leur utilisation dans les engrais bactériens). *Mikrobiologija*, **32**, 168-174.

Wada B. — 1948. Cytological studies on the effect of gibberellin upon mitotic cells. *Japan. J. Genetics, Suppl.*, **2**, 24-28.

Wareing P. F. — 1949. Photoperiodic control of leaf growth and cambial activity in *Pinus silvestris*. *Nature*, **163**, 770-771.

Wareing P. F. — 1950. Extension and radial growth in trees. *Nature*, **166**, 278.

Wareing P. F. — 1951 a. Growth studies in woody species. III. Further photoperiodic effects in *Pinus silvestris*. *Physiol. Plants.*, **4**, 41-56.

Wareing P. F. — 1951 b. Growth studies in woody species. IV. The initiation of cambial activity in ring porous species. *Physiol. Plant.*, **4**, 546-562.

Wareing P. F. — 1958. Interaction between indole-acetic acid and gibberellic acid in cambial activity. *Nature*, **181**, 1744-1745.

Wareing P. F. et Roberts D. L. — 1956. Photoperiodic control of cambial activity in *Robinia pseudacacia*. *New Phytol.*, **55**, 356-366.

Weaver R. P. — 1959. Prolonging dormancy in *Vitis vinifera* with gibberellin. *Nature*, **183**, 1198-1199.

Weaver R. J. — 1963. Use of kinin in breaking rest in buds of *Vitis vinifera*. *Nature*, **198**, 207-208.

Weaver R. J., Mac Cune S. B. et Coombe B. G. — 1961. Effects of various chemicals and treatments on rest period of grape buds. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **12**, 131-142.

Weber Fr. — 1911. Uber die Abkürzung der Ruheperiode der Holzegewächse durch Verletzung der Knospen Injektion derselben mit Wasser (Verletzungmethode). *Anz. K. Akad. Wiss. Wien, Math-Nat. Kl.*, **120**, 182-183.

West C. A. et Phinney B. O. — 1956. Properties of gibberellin-like factors of higher plants. *Plant Physiol., Suppl.*, **31**, 20.

West C. A. et Phinney B. O. — 1959. Gibberellins from flowering plants. I. Isolation and properties of a gibberellin from *Phaseolus vulgaris* L. *J. amer. chem. Soc.*, **81**, 2424-2427.

Wetmore R. H. et Pratt C. — 1949. The growth and auxins relations of leaves of the maindenhair fern, *Adiantum pedatum* L. *Amer. J. Bot.*, **36**, 806.

Wetmore R. H. et Sorokin S. — 1955. On the differentiation of xylem. *J. Arnold Arbor.*, **36**, 305-317.

White Ph. R. — 1945. Metastatic (graft) tumors of bacteria-free Crown-gall on *Vinca rosea*. *Amer. J. Bot.*, **32**, 237-241.

White Ph. R. — 1954. *The cultivation of animal and plant cells*. The Ronald Presse Company, éd., New York, 239 p.

White Ph. R. et Braun A. C. — 1941. Crown-gall production by bacteria-free tumor tissues. *Science*, **94**, 239-241.

Wickson J. et Thimann K. V. — 1958. The antagonism of auxin and kinetin in apical dominance. *Physiol. Plant.*, **11**, 62-74.

Wight W. — 1933. Radial growth of the xylem and the starch reserves of *Pinus silvestris* : a preliminary survey. *New Phytol.*, **32**, 77-96.

Winter H. — 1954. Der Einfluss von Wirkstoffen von Röntgen und Elektronenstrahlen auf die Kambiumtätigkeit von *Beta vulgaris*. *Planta*, **44**, 636-668.

Wurgler W., Leyvraz H. et Bolay A. — 1955. Peut-on prévoir le rendement de la vigne avant le débourrement ? *Ann. Agric. Suisse*, **56**, 783-786.

Zaizeva G. N., Belozersky A. N. et Bykhovsky V. J. — 1959. (Chimie d'*Azotobacter*. VIII. Etude des acides aminés libres et des mononucléotides dans *Azotobacter agile 22 D* en fonction de l'âge de la culture et de la nutrition azotée). *Mikrobiologija*, **28**, 675-682.

Zelawski W. — 1956. A research on the yearly cycle in the growth of woody plants with special reference to photoperiodism in seedlings of the Europeach larch (*Larix europea* D C). *Acta soc. Bot. Polon.*, **25**, 245-274.

Zielinski M. — 1955. (Influence des microorganismes sur la croissance et sur la production de chlorophylle des tissus de *Daucus carota* L. cultivés *in vitro*). *Nadbitka ze Sprawozdan Pozn. Tow. Przyj. Nauk za* III i 4 Kwartat.

Zimmermann J. — 1954. Sprosshistologie und Holzreife bei der Rebe. *Mitt. Klosterneuburg*, **4**, A, 101-119.

Zimmermann W. A. — 1936. Untersuchungen über die räumliche und zeitliche Verteilung des Wuchsstoffes bei Bäumen. *Z. Bot.*, **30**, 209-252.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 7

PREMIERE PARTIE

Chapitre I : Rôle des méristèmes primaires et secondaires de tiges dans la croissance de la vigne 11

I. — Méristème apical 11

II. — Méristème axillaire : œil latent. Etude particulière de sa dormance 12

A. — *Phases de la dormance des bourgeons de vigne* 14

B. — *Causes de l'entrée en dormance des bourgeons axillaires* 15

C. — *Levée de la dormance des bourgeons de vigne* 18

a) Action du froid 18

b) Action du bain chaud et de la dessication 20

c) Action de diverses substances chimiques 20

III. — Méristème secondaire. Etude particulière de sa « dormance » 21

A. — *Première théorie : activité du cambium dépendant de celle des bourgeons* 21

a) Les auxines 22

b) Les gibbérellines et les kinines 23

B. — *Deuxième théorie : activité du cambium ne dépendant pas de celle des bourgeons* 27

C. — *Comportement* in vitro *du cambium prélevé en hiver* 28

Chapitre II : Dormance des bourgeons de vigne 33

I. — Protocole expérimental 33

II. — Comportement des bourgeons de boutures herbacées et aoûtées. 35

A. — *Boutures herbacées* 35

B. — *Boutures aoûtées* 36

III. — Essai de levée de dormance par le froid 37

IV. — Essai de levée de dormance par la rindite 39

Chapitre III : Comportement en culture aseptique de segments de tiges de vigne prélevés au cours de la période de végétation 43

I. — Exposé sommaire des procédés employés pour la culture « in vitro » des tissus végétaux 43

II. — Cultures de segments de tiges de vignes prélevés au cours de la période de végétation 44
A. — *Cultures dans un milieu dépourvu de substances stimulantes.* 44
a) Formation de cal 45
b) Formation de racines 48
B. — *Cultures de segments de tiges de vigne en présence d'auxine.* 51
a) Formation de cal 51
b) Formation de racines 52

Chapitre IV : Comportement en culture aseptique de segments de tiges de vigne prélevés au cours du repos végétatif 55

I. — Cultures dans un milieu dépourvu de substances stimulantes .. 55
A. — Rupestris du Lot 55
B. — Syrah 56
C. — *Autres variétés* 57

II. — Cultures en présence de substances stimulantes 58
A. — *Auxines de synthèse* 58
B. — *Vitamines, kinétine et produits de composition non définie.* 61

Chapitre V : Relations entre l'activité du méristème primaire et celle du méristème secondaire 67

I. — Action, sur la prolifération du méristème secondaire, du bourgeon en croissance conservé sur le segment 67

II. — Comparaison de l'activité du méristème primaire, dans la nature, et de celle du méristème secondaire, *in vitro* 69

III. — Activité du méristème primaire de boutures mises en terrines et activité du méristème secondaire d'entre-nœuds cultivés *in vitro.* 69
A. — *Cas des tiges non traitées* 73
B. — *Cas des tiges ayant subi un traitement préalable à la rindite* 74

DEUXIEME PARTIE

Chapitre VI : Action de bactéries sur la croissance des plantes 77

I. — Effets généraux des bactéries sur la croissance des plantes .. 77
A. — *Action de bactéries sur la croissance de racines isolées* 79
B. — *Action de bactéries sur la formation de cals* 80
a) Bactéries pathogènes 80
b) Bactérie indéterminée 81

II. — Nature des « substances de croissance » synthétisées par les bactéries 82
A. — *Synthèse d'auxine* 83
B. — *Synthèse de gibbérellines* 85
C. — *Synthèse de substances antibiotiques* 85
D. — *Synthèse de vitamines* 85
E. — *Synthèse d'acides aminés* 86
F. — *Synthèse d'autres composés* 87

Chapitre VII : Action de Bacillus megaterium *et d'autres bactéries sur les tissus de certaines variétés de vigne cultivés in vitro* 89

I. — Réactions, au cours de l'année, des segments de variétés du groupe *Rupestris du Lot* .....

A. — *Formation de cal en présence de* Bacillus megaterium 90

B. — *Formation de racines en présence de* Bacillus megaterium .. 91

II. — Réactions, au cours de l'année, des segments de variétés du groupe *Syrah* 93

A. — *Formation de cal en présence de* Bacillus megaterium 94

B. — *Formation de racines en présence de* Bacillus megaterium .. 94

III. — Action de diverses souches de *Bacillus megaterium* et de bactéries sur les tissus de vigne prélevés pendant le repos végétatif 97

IV. — « Test » de l'action des bactéries, utilisable pendant la période de végétation 99

A. — *Réactions des explantats dépourvus d'écorce en présence de* Bacillus megaterium 100

B. — *Réactions des explantats dépourvus d'écorce en présence d'auxines* 101

C. — *Réactions des explantats dépourvus d'écorce en présence d'autres bactéries que* Bacillus megaterium 102

Chapitre VIII : Action de bactéries sur des tissus végétaux autres que ceux de vigne 105

I. — Réactions des tissus de topinambour en présence de bactéries .. 105

A. — *Action de* Bacillus megaterium 106

B. — *Action d'autres bactéries* 110

a) Action stimulante 110

b) Action nulle 111

II. — Réactions de la moelle de tige de tabac en présence de *Bacillus megaterium* 112

III. — Réactions des tissus de crown-gall en présence de *Bacillus megaterium* 112

IV. — Réactions de racines de lin 114

Chapitre IX : Action de filtrats et d'extraits de milieux de culture de Bacillus megaterium *sur divers tissus* 117

I. — Culture des tissus et des bactéries séparés par une membrane de collodion 117

II. — Action de filtrats de milieux de culture de *Bacillus megaterium* sur les tissus 119

A. — *Protocole expérimental* 119

B. — *Action des filtrats sur les tissus de* Rupestris du Lot 120

C. — *Action des filtrats sur les tissus de topinambour* 122

III. — Etude des extraits de filtrats de milieux de culture de *Bacillus megaterium* sur les tissus 124

A. — *Action des extraits bruts* 125

B. — *Action des extraits fractionnés* 126
C. — *Action des éluats d'extraits chromatographiés* 127

Chapitre X : Recherche des substances actives présentes dans les extraits. 131

I. Méthodes 131
A. *Réactions colorées* 131
B. — *Tests biologiques* 131
C. — *Examen sur papier et spectrophotométrie dans l'ultra-violet*.. 132

II. — Résultats 132
A. — *Dérivés indoliques et composés dont l'action est analogue à celle de la gibbérelline* 132
a) Réactions colorées 133
b) Tests biologiques 133
c) Spectrophotométrie dans l'ultra-violet 137
B. — *Dérivés puriques* 139

DISCUSSION DES RESULTATS. APPLICATIONS POSSIBLES 143

I. — Facteurs de l'activation du cambium 143

II. — Role de diverses bactéries sur la division cellulaire 145

III. — Applications possibles des résultats obtenus 147

CONCLUSIONS GENERALES 149

BIBLIOGRAPHIE 151

DEUXIÈME THESE

Propositions données par la Faculté

LA CÉCIDOGENÈSE CHEZ LA VIGNE

Vu : Bon à imprimer,
Toulouse, le 22 janvier 1964.
Le Doyen,
E. DURAND.

Vu et permis d'imprimer,
Toulouse, le 27 janvier 1964.
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
A. LOYEN.

Imp. du Sud, 24, rue de Négreneys. — Toulouse
Dépôt légal n° 176. — Février 1964